



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA FARMAKOLOGIE A TOXIKOLOGIE

Transkripční regulace genové exprese transportérů léčiv.

Diplomová práce

Hradec Králové, 20008

Zuzana Svobodová

Abstrakt

Nukleární receptory regulují díky interakcím s xenobiotiky expresi enzymů I. i II. fáze biotransformace a mnoha lékových transportérů, jež jsou zapojeny v procesu eliminace léčiv z organismu. Při aktivaci nukleárních receptorů může dojít k farmakokinetickým lékovým interakcím, při nichž látka zvyšuje aktivitu biotransformačních enzymů nebo transportérů podílejících se na eliminaci jiného společně podaného léčiva.

Diplomová práce je shrnutím v současnosti dostupných poznatků, které se týkají transkripční regulace lékových transportérů prostřednictvím nejdůležitějších nukleárních receptorů a transkripčních faktorů. Největší důležitost je věnována lékovým transportérům ze skupiny ABC transportérů. Jako zdroj informací byly použity databáze PubMed, HighWire a ScienceDirect. Celkem jsem našla informace o 25 transportérech regulovaných prostřednictvím 10 nukleárních receptorů a transkripčních faktorů.

Abstract

Nuclear receptors activated by transcriptional factors control expression of biotransformation enzymes and many drug transporters, which are involved in drug elimination through the interactions with xenobiotics. When the nuclear receptors are activated, mechanism of pharmacokinetics drug interactions is triggered and drugs increase activity of biotransformation enzymes or transporters involved in elimination of another co-administrated drug.

This dissertation summarizes our current knowledge concerning transcriptional regulation of drug transporters via the most important nuclear receptors and transcriptional factors. The greatest importance is devoted to the ABC transporters. Databases PubMed, HighWire and ScienceDirect were used as a source of information. I have found information about 25 transporters, which are regulated by 10 nuclear receptors and transcriptional factors.

Děkuji PharmDr. Petru Pávkovi, Ph.D za odborné vedení diplomové práce a poskytnutí odborných materiálů.

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

.....

Osnova

1.	Abstrakt.....	2
2.	Cíl.....	8
3.	Úvod.....	9
4.	Obecná část.....	10
4.1.	Lékové transportéry.....	10
4.1.1.	Transportéry jako determinanty clearance léčiv a tkáňové distribuce v játrech a ledvinách	14
4.1.2.	Jaterní a ledvinné transportéry jako determinanty distribuce léčiv.....	19
4.1.2.1.	Substráty hepatobiliárních transportérů	19
4.1.2.2.	Substráty renálních transportérů	24
4.1.2.3.	Rovnováha mezi hepatickou a renální clearance určuje eliminační cestu.....	25
4.1.3.	Mechanismus transportéry zprostředkované interakce mezi léčivy.....	29
4.2.	Rodiny transportérů.....	33
4.2.1.	Polypeptidy transportující organické aniony (OATP).....	33
4.2.2.	Rodina MRP.....	34
4.2.3.	Rodina MDR.....	38
4.3.	Nukleární receptory.....	40

4.3.1.	Nukleární receptorová rodina 1 (NR1).....	41
4.3.1.1.	Pregnanový X receptor (PXR).....	41
4.3.1.2.	Konstitutivní androstanový receptor (CAR).....	43
4.3.1.3.	Farnesoidní X receptor (FXR).....	45
4.3.1.4.	Peroxisomální proliferátorem aktivovaný receptor α (PPAR α).....	45
4.3.1.5.	Receptor vitamínu D (VDR).....	47
4.3.2.	Další transkripční faktory.....	48
4.3.2.1.	Hepatocytový nukleární faktor 4 α (HNF4 α).....	48
4.3.2.2.	Jaterní receptorový homolog 1 (LRH-1).....	48
4.3.2.3.	Malý heterodimerní partner-1 (SHP-1).....	49
4.3.2.4.	Aryl hydrocarbonový receptor (AhR.....	49
4.3.2.5.	Nukleární faktor-E2-p45-související s faktorem 2 (Nrf2).....	50
4.3.2.6.	Jaterní nukleární faktor 1 α (HNF1 α).....	50
5.	Diskuze.....	53
6.	Závěr.....	55
7.	Literatura.....	56

Zkratky

ABC - ATP binding protein

AhR - aryl hydrocarbonový receptor

ACEI - angiotensin konvertujícího enzymového

ATP - adenosin trifosfát

BSEP - bile salt export pump

BCRP - breast cancer resistance protein

CAR - konstitutivní androstanový receptor

CL_H – jaterní clearance

CL_{tot} – celková clearance

CL_R – ledvinová clearance

CYP - cytochrom

f_B - krevní proteinová frakce

FXR - farnesoidní X receptor

GFR - glomerulární filtrační hodnota

HNF4 α – hepatocytový (jaterní) nukleární faktor 4 α

HNF1 α - jaterní nukleární faktor 1 α

LRH-1 - jaterní receptorový homolog 1

MDR - multidrug resistance protein

MRP - multidrug resistance-associated protein

NR1 - nukleární receptorová rodina 1

Nrf2 - nukleární faktor-E2-p45-související s faktorem 2

NTCP – na sodíku závislý taurocholát transportující peptid

OAT - transportér organických aniontů

OATP - organické anionty transportující polypeptid

OCT - transportér organických kationtů

OCTN - novel organic cation transportér

PBREM –fenobarbital vázající respozivní element

PEPT - transportér oligopeptidů

PPAR α - peroxisomální proliferátorem aktivovaný receptor α

PXR - pregnanový X receptor

SHP-1 - malý heterodimerní partner-1

VDR - receptor vitamínu D

AR - androgen receptor

2. Cíl

Cílem této diplomové práce je shrnout v současnosti dostupné poznatky týkající se transkripční regulace lékových transportérů prostřednictvím nejdůležitějších nukleárních receptorů a transkripčních faktorů.

Zvláštní důraz bude věnován lékovým transportérům ze skupiny ABC transportérů.

Informace budou vyhledávány v databázích PubMed, HighWire a ScienceDirect.

Klíčová slova : abc transporter nuclear receptor not review (PubMed)

 Abc transporter transcriptional factor not review (Pubmed, Science
 Direct, HighWire)

3. Úvod

Nukleární receptory a další ligandy aktivované transkripční faktory regulují na základě interakce s xenobiotiky expresi enzymů první a druhé fáze biotransformace a řady lékových transportérů, které se podílejí na eliminaci léčiv z organismu. Tímto mechanismem nukleární receptory a transkripční faktory zásadně ovlivňují biodostupnost a expozici xenobiotik, proto jsou někdy označovány také jako xenosenzory. Aktivace nukleárních receptorů je jedním z molekulárních mechanismů farmakokinetických lékových interakcí, při kterých léčivo zvyšuje aktivitu biotransformačních enzymů nebo transportérů podílejících se na eliminaci jiného spolupodaného léčiva.

4. Obecná část

4.1. Lékové transportéry

V současnosti bylo identifikováno několik desítek membránových přenašečových proteinů (transportérů), které transportují xenobiotika a léčiva přes lipidovou dvojvrstvu cytoplazmatické membrány. Nejdůležitější lékové transportéry jsou uvedeny v tabulce č. 1. Transportéry jsou rozděleny na primární, sekundární a terciární podle toho, jak přijímají energii nutnou k transmembránovému transportu substrátů. Podle tohoto kritéria jsou pak ABC (z anglického ATP-binding cassette) transportéry považovány za primární transportéry, získávající energii nutnou k transportu pomocí hydrolýzy ATP (Mizuno a kol. 2003). Transportéry rodin OAT, OATP, NTCP, OCT, OCTN a PEPT jsou považovány za sekundární nebo terciární transportéry, jelikož energii získávají z kotransportu nebo antiportu iontů nebo jiných látek.

Podle směru transmembránového přenosu jsou transportéry děleny na tzv. „uptake“ nebo „intake“ přenašeče transportují substráty do buňky (např. OATP transportéry) a na „efflux“ transportéry odvádějící substráty z buňky (ABC transportéry).

Tabulka č. 1 Nomenklatura nejvýznamnějších lékových transportérů. (část 1.)

Zkratka	Anglický název	Symbol^a
MDR1/P-gp	Multidrug resistant gene/P-glycoprotein	<i>ABCB1</i>
BSEP/SPGP	Bile salt export pump/sister of P-glycoprotein	<i>ABCB11</i>
MRP1	Multidrug resistance associated protein 1	<i>ABCC1</i>
MRP2/cMOAT	Multidrug resistance associated protein 2	<i>ABCC2</i>
MRP3	Multidrug resistance associated protein 3	<i>ABCC3</i>
MRP4	Multidrug resistance associated protein 4	<i>ABCC4</i>
BCRP	Breast cancer resistance protein	<i>ABCG2</i>
NTCP	Sodium taurocholate cotransporting peptide	<i>SLC10A1</i>
ASBT	Apical sodium-dependent bile acid transporter	<i>SLC10A2</i>
PEPT1	Oligopeptide transporter 1	<i>SLC15A1</i>
PEPT2	Oligopeptide transporter 2	<i>SLC15A2</i>
OATP1A2	Organic anion transporting polypeptide-A	<i>SLC21A3</i>
OATP1B1	Organic anion transporting polypeptide-C	<i>SLC21A6</i>
OATP1B3	Organic anion transporting polypeptide 8	<i>SLC21A8</i>
OATP2B1	Organic anion transporting polypeptide-B	<i>SLC21A9</i>
OATP3A1	Organic anion transporting polypeptide-D	<i>SLC21A11</i>
OATP4A1	Organic anion transporting polypeptide-E	<i>SLC21A12</i>
OATP1C1	Organic anion transporting polypeptide-F	<i>SLC21A14</i>
OATP4C1	Organic anion transporting polypeptide-H	<i>SLC21A20</i>
OCT1	Organic cation transporter 1	<i>SLC22A1</i>
OCT2	Organic cation transporter 2	<i>SLC22A2</i>

(část 2.)

OCT3	Organic cation transporter 3	<i>SLC22A3</i>
OCTN1	Novel organic cation transporter 1	<i>SLC22A4</i>
OCTN2	Novel organic cation transporter 2	<i>SLC22A5</i>
OAT1	Organic anion transporter 1	<i>SLC22A6</i>
OAT2	Organic anion transporter 2	<i>SLC22A7</i>
OAT3	Organic anion transporter 3	<i>SLC22A8</i>
OAT4	Organic anion transporter 4	<i>SLC22A9</i>

Nomenklatura založena na klasifikaci Human Gene Nomenclature Committee. Názvy transportérů nemají v českém jazyce ekvivalenty, proto jsou uvedeny anglické názvy.

Tabulka převzata a doplněna z práce Mizuno a kol. 2003.

ABC transportéry

V současnosti bylo identifikováno 48 genů ABC transportérů rozdělených do 7 podrodin ABCA až ABCG (Tabulka č. 2, <http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/genefamily/abc.html>). Pouze však transportéry podrodiny C (MRP transportéry), P-glykoprotein (ABCB1) a Breast Cancer Resistance Protein (BCRP, ABCG2) jsou významnější transportéry léčiv.

Tabulka č. 2 Lidské ABC transportéry, jejich funkce a choroby způsobené defekty jejich
genů (část 1.)

Triviální název / Symbol Genu /Aminokyseliny / Funkce / fenotyp, onemocnění

ABCA podrodina

ABC1	ABCA1	2261	Eflux cholesterolu a fosfolipidů	-HDL deficiencie
ABC2	ABCA2	2436	Lipidový transport?	- Abnormality v syntéze myelinu
ABC3	ABCA3	1704	Sekrece pulmonálního surfaktantu	-Surfaktantová deficiencie u novorozenců
ABCR	ABCA4	2273	Transport retinoidů	- Stargardtova nemoc 1
ABCA7	ABCA7	2146	Transport fosfolipidů	
ABCA12	ABCA12	2595	Lipidový transport?	- „Harlequin ichthyosis“

ABCB podrodina

MDR1, PGY1	ABCB1	1280	Eflux xenobiotik, MDR	
TAP1	ABCB2	808	Transport antigenních peptidů do ER lumen/Behçetova chor.	
TAP2	ABCB3	653	Transport antigenních peptidů do ER lumen / Behçetova chor.	
MDR2/3	ABCB4	1279	Sekrece fosfatidylcholinu do žluče	- Intrahepatická cholestáza
ABCB6	ABCB6	842	Transport porfyrinů mitochondriích	
ABC7	ABCB7	752	Transport komplexů železa a sulfátu v mitochondriích	
SPGP, BSEP	ABCB11	1321	Transport žlučových kyselin	- Intrahepatická cholestáza

(část 2.)

ABCC podrodina

MRP1	ABCC1	1531	Detoxifikace xenobiotik, MDR	
MRP2/cMOAT	ABCC2	1545	Export bilirubinu	-Dubin–Johnsonův syndrom
MRP3	ABCC3	1527	Transport konjugátů sulfátu a glukuronátu	
MRP4	ABCC4	1325	Transport antivirotik a prostaglandýnů	
MRP5	ABCC5	1437	Transport nukleosidů	
MRP6	ABCC6	1503	?	- <i>Pseudoxanthoma elasticum</i>
CFTR	ABCC7	1480	Cl ⁻ kanál	-Cystická fibrosa
SUR1	ABCC8	1581	ATP senzitivní K ⁺ kanál v β-buňkách	
SUR2	ABCC9	1549	ATP senzitivní K ⁺ kanál v kardiomyocytech	

ABCD podrodina

ALDP	ABCD1	745	Peroxisomální transport dlouhých mastných kyselin	- Adrenoleukodystrofie
ALDR	ABCD2	740	Peroxisomální transport dlouhých mastných kyselin	- Adrenoleukodystrofie
PMP70	ABCD3	659	Peroxisomální transport dlouhých mastných kyselin	

ABCG podrodina

ABCG1	ABCG1	678	Transport cholesterolu a fosfolipidů	
ABCP, BCRP	ABCG2	655	MDR, specifická exprese v kmenových buňkách	
ABCG5	ABCG5	651	Export fytosterolů	- Sitosterolémie
ABCG8	ABCG8	673	Export fytosterolů	- Sitosterolémie

Tabulka převzata z práce Kimura a kol. 2007.

4.1.1. Transportéry jako determinanty clearance léčiv a tkáňové distribuce

v játrech a ledvinách

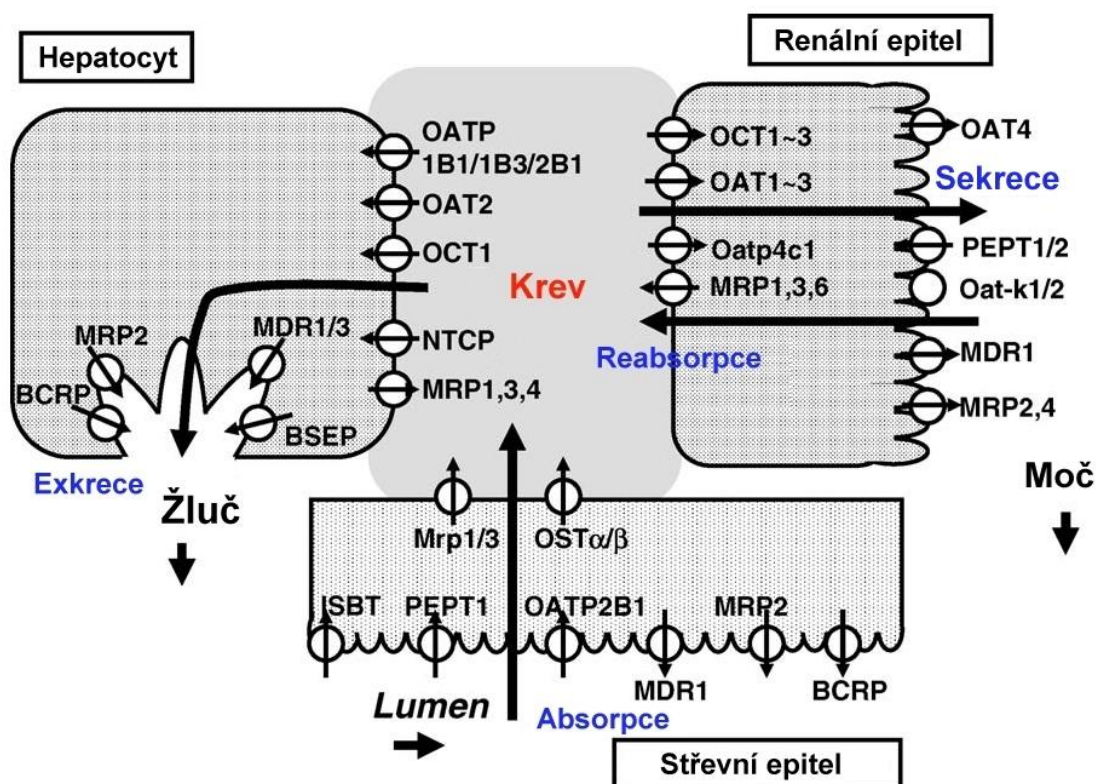
Eliminace léčiva játry se skládá z následujících procesů: jaterní vstřebávání, metabolizace a/nebo žlučová exkrece. V těchto procesech nacházejí své uplatnění také transportéry léčiv, jež zasahují do vychytávání léčiv, sinusoidálního výdeje i do biliární exkrece. Značným přínosem, jež pomáhá charakterizovat a poznat mechanismy eliminace léčiv játry, je klonování transportérů léčiv. Za povšimnutí stojí fakt, že jaterní uptake spolu s biliární exkrecí určují koncentraci léčiva v játrech a mohou ovlivnit farmakologický efekt a/nebo vedlejší nežádoucí účinky (Giacomini a Sugiyama, 2005). Tudíž, transportéry léčiv transportující léčiva, jejichž místem účinku jsou játra, jsou hlavními činiteli farmakologických účinků a/nebo vedlejších efektů těchto léčiv.

V ledvinách je clearance léčiv určena glomerulární filtrací, tubulární sekrecí a reabsorpcí. Protože je glomerulární filtrace prostou ultrafiltrací léčiv, která se nevážou na plazmatické proteiny, transportéry léčiv se zde nezapojují.

Transportéry se uplatňují zejména v tubulární sekreci a reabsorpci. V proximálních tubulech bylo zaznamenáno několik aktivních transportních mechanismů, tyto jsou zodpovědné za sekreci. Reabsorpce je někdy zprostředkována transportéry, ačkoliv je mnoho léčiv reabsorbováno jen pasivní difúzí, která závisí na vysokém koncentračním gradientu mezi krví a nefronem, jež je dána reabsorpcí vody zpět do plazmy.

Orálně podávaná léčiva nejprve procházejí střevem a následně se objevují v portální krvi. Tato střevní absorpce ovlivňuje koncentraci léčiva v cirkulující krvi. Mimoto se střevní stěna uplatňuje jako bariéra vůči xenobiotikům (Wacher a kol. 2001, Zhang a Benet, 2001).

Transportéry v jiných tkáních rovněž určují distribuci léčiv k cílovým orgánům. Umožňují, aby se projevil farmakologický účinek léčiva a/nebo účinky nežádoucí. Distribuční objem léčiv v mozku je obecně nízký, transportéry tedy neovlivňují plazmatickou koncentraci léčiva. Nicméně, kontrolují distribuci léčiv přes hematoencefalickou bariéru a ovlivňují tak farmakologické a vedlejší efekty xenobiotik (Tamai a Tsuji, 2000, Kusuhara a Sugiyama, 2004, 2005).



Obrázek 1 – Transportéry se zapojují do střevní absorpce, jaterní a ledvinové exkrece. Mnoho transportérů je zapojeno do transcelulárního přenosu léčiv do jater, ledvin a střeva. K uskutečnění transporu léčiv je nutné, aby tato prošla dvěma rozdílnými membránami. Ve střevě jsou léčiva absorbována z lumenální strany (kartáčový lem) a jsou exkretovány skrz basolaterální membránu do portální krve. V játrech jsou léčiva vychytávány do hepatocytů přes sinusoidální membránu a dále jsou exkretovány do žluče. V ledvinách se léčiva podrobují exkreci (močová exkrece) nebo reabsorpci. V případě sekrece jsou léčiva vychytávána z basolaterální strany a exkretovány do moče apikální stranou. V případě resorpce jsou léčiva vychytávána z moči a exkretována do cirkulující krve.

Tabulka č.3 Významná léčiva jako substráty jaterních transportérů

(část 1.)

		Transportéry vychytávání	Metabolizující enzymy	Transportéry žlučových kanálků	Reference
Atorvastatin	Člověk	OATP1B1	CYP3A4		Kameyama a kol.(2005) Lauet a kol.(2006)
Bosentan	Člověk Potkan	 Oatp1a1 Oatp1a4 Oatp1b2	CYP2C9 CYP3A4		Treiber a kol (2004)
Kapsofungin	Člověk	OATP1B1			Sandhu a kol.(2005)
Cerivastatin	Člověk Potkan	OATP1B1 Oatp1a1 Oatp1a4 Oatp1b2	CYP3A4 CYP2C8		Shitara a kol.(2003) Shitara a kol.(2004b)
Fexonénadin	Člověk Potkan	OATP1B1 OATP1B3 OATP2B1 Oatp1a1 Oatp1a4		MDR1	Cveckovic (1999) Niemi (2005a) Shimizu (2005)
Glycyrrhizin	Člověk Potkan	OATP1B1 OATP1B3 Oatp1a1 Oatp1a4 Oatp1b2			Ismair a kol.(2003), Ismair a kol.(2003)

(část 2.)					
Pravastatin	Člověk	OATP1B1 OATP2B1		MRP2 BSEP BCRP MDR1	Hsiang a kol.(1999) Nakai a kol. (2001)
	Potkan	Oatp1a1 Oatp1a4 Oatp1b2		Mrp2	Sasaki a kol (2002, 2004) Kobayashi a kol. (2003) Hsiang a kol. (1999) Tokui a kol. (1999)
Pitavastatin	Člověk	OATP1A1 OATP1B3	CYP2C9	MRP2 BCRP MDR1	Hirato a kol.(2004,2005 a,2005b)
Rifampicin	Člověk	OATP1B1 OATP1B3		MDR1	Shuetz a kol. (1996), Vavricka (2002)
Repaglinid	Člověk	OATP1B1	CYP2C8 CYP3A4		Niemi a kol (2005b)
Rosuvastatin	Člověk	OATP1B1 OATP1B3 OATP2B1		MRP2 MDR1 BCRP	Schneck (2004) Kitamura (2005)
Telmisartan	Člověk	OATP1B3	UGT	MRP2 (jako glukuronid)	Nishino a kol. (2000),Ishiguro a kol. (2005)

Převzato z článku: Transporters as a determinant of drug clearance and tissue distribution

(Shitara a kol., 2005)

4.1.2. Jaterní a ledvinné transportéry jako determinanty distribuce léčiv

4.1.2.1. Substráty hepatobiliárních transportérů

Tabulka č.3 ukazuje vybraná léčiva, jež jsou substráty transportérů v játrech. Některé z nich jsou vychytávány hepatocyty a následně metabolizovány, zatímco jiné jsou exkretovány do žluče v nezměněné podobě (Stieger a Meier, 1998, Keppler a König, 2000, van Montfoort a kol, 2003, Fujito a kol., 2004a). Mezi nejstudovanější látky z hlediska transportu jaterními transportéry patří statiny, inhibitory 3-hydroxy-3-methylglutaryl koenzym A (HMG-CoA) reduktázy. Proto budou zmíněny především poznatky o této terapeutické skupině.

Například atorvastatin, který je vychytáván do jater transportérem OATP1B1, prochází metabolizací cytochromem P450 3A4 (CYP3A4) (Lennernas, 2003, Kameyama kol., 2005, Lau a kol., 2006). V případě cerivastatinu jsou CYP2C8 a 3A4 zodpovědné za jeho metabolizaci po jaterní absorpci (Muck, 2000, Shitara a kol, 2003,2004b).

Na druhou stranu, u pravastatinu a rosuvastatinu zaznamenáváme, že jsou exkretovány hlavně v nezměněné formě (Hatanaka, 2000, White, 2002).

Ačkoliv pitavastatin je metabolizován CYP2C9, hladina metabolizace je velmi nízká a je vylučován do žluče zejména v nezměněné formě (Fujimori kol., 2004b). S tímto jevem se setkáme u experimentálních zvířat jako jsou potkani, králíci a psi. Pro některá léčiva z tabulky č. 3 je v tabulce č. 4 ukázán jaterní extrakční poměr a frakce exkretovaná do moči v nezměněné formě.

V této tabulce je jaterní extrakční poměr vypočítán z jaterní clearance, která je dána celkovou tělesnou clearance minus ledvinová clearance a dále je dělena jaterním krevním průtokem.

Hepatobiliární transportní mechanismus pravastatinu byl studován na potkanech. Michelisova konstanta K_m určující in vitro jaterní uptake byla zjištěna 29-37 μM , zatímco žlučová exkrece má hodnotu 220 μM (Yamazaki a kol., 1993,1997). Na druhou stranu, K_m hodnota hepatického eliminačního stupně in vivo je blízká té pro jaterní uptake in vitro, to naznačuje, že mezní rychlost vylučování celkové jaterní eliminace je u potkanů určena uptake (Yamazaki a kol,1996b).

Tabulka č. 4 Jaterní extrakce substrátových léčiv jaterních uptake transportérů

	Cl_{tot} (L/h)	f_e	E_H
Ceristatin	13	0	0.13
Pravastatin	57	0.47	0.31
Rosuvastatin	49	0.30	0.36
Repaglinid	38	0.080	0.36
Valsartan	2.2	0.29	0.016
Bosentan	13	0.01	0.14

Poznámky:

f_efrakce exkretovaná do moči v nezměněné formě

E_Hjaterní extrekční poměr

Převzato z článku : Transporters as a determinant of drug clearance and tissue distribution

(Shitara a kol., 2005)

Potkaní Oatp1a1 (Oatp1,Slco1a1/Slc21a1), Oatp1a4 (Oatp2,Slco1a4/Slc21a5) a Oatp1b2 (Oatp4,Slco1b2/Slc21a10) jsou zapojeny do jaterní absorpce pravastatinu (Hiasing a kol., 1999, Tokui a kol. 1999, Sasaki a kol., 2004). Ohledně zapojení přenašeče Oatp1a4 existují různé, navzájem si protiřečící záznamy. Hsiang a spol. ukázali, že Oatp1a4 nepřijímá pravastatin jako substrát, zatímco Tokui a kol. popsali jeho satureovatelný transport Oatp1a4

v *Xenopus laevis* ovocytech. Tento rozpor může být způsoben rozdílem v používaném experimentálním systému, jako jsou cDNA transfekované savčí buňky versus cRNA injikované *Xenopus laevis* oocyty. Uptake studie v izolovaných potkaních hepatocytech ukázala, že většina z jaterní absorpce pravastatinu (92-93 %) je zprostředkována saturačním procesem.

Lidské Oatp1B1 a Oatp2B1 (SLCO2B1/SLC21A9) přijímají pravastatin jako substrát pro jaterní absorpční transportéry a zdá se, že OATP1B1 hraje hlavní roli.

Současné studie používající MDCK buňky exprimující OATP1B1 a exkreční transportéry MRP2 (ABCC2) a MDR1(ABCB1) nebo BCRP (ABCG2) ukázaly, že exkrece pravastatinu žlučí je u člověka zprostředkována mnoha transportéry.

Nejen MRP2, ale také BCRP a MDR1 mohou hrát roli v žlučové exkreci, ačkoli příspěvek MRP2 se zdá být největší. Rovněž BSEP (ABCB11) se zapojuje do biliární exkrece.

Studie naznačují, že genový polymorfismus OATP1B1 mění farmakokinetiku pravastatinu, což nasvědčuje skutečnosti, že transportéry zprostředkující jaterní vychytávání jsou hlavními určujícími činiteli jeho plazmatické clearance. Novější studie ukázaly, že genový polymorfismus v OATP1B1 upravuje farmakokinetiku pravastatinu podobně jako u pravastatinu (Chung a kol., 2005).

Podobně i u dalších léčiv, jejichž clearance je závislá na metabolismu, se může jaterní uptake stát určujícím činitelem rychlosti celkové eliminace. V případě vylučování cerivastatinu je jasné, že u lidí i u potkanů je faktorem limitujícím rychlost eliminace proces vychytávání (Muck a kol., 1999, Shitara a kol., 2003, 2004b). Antidiabetické léčivo repaglinid je také metabolizováno pomocí CYP2C8 a 3A4. Jeho celková clearance je rovněž ovlivňována genetickým polymorfismem OATP1B1 a naznačuje, že OATP1B1 zprostředkované vychytávání je determinantou jeho celkové farmakokinetiky.

Nedávné studie ukázaly, jak cyklosporin A (CsA) mění farmakokinetiku repaglinidu, což podporuje tvrzení, že tento, transportérem zprostředkovaný jaterní uptake je determinantou jeho farmakokinetiky. Bosentan, endotelinový receptorový antagonist, je metabolizován pomocí CYP2C9 a 3C4 (Dingemanse a van Giersbenger, 2004). Ačkoliv mechanismus jeho jaterního vychytávání u lidí je stále zkoumán, jeho farmakologické chování u potkanů je ovlivňováno spolupodáním CsA (Treiber a kol., 2004). Treiber a kol. analyzovali mechanismus jeho farmakologické interakce a usoudili, že ta je způsobena hlavně díky inhibici Oatp, jež zprostředkuje jaterní uptake, protože inhibice Mdr1a/b (Abcb1a/b) nezpůsobuje výrazné změny ve farmakokinetice bosentanu a inhibice metabolismu byla nedostatečná pro vysvětlení skutečné interakce mezi těmito dvěma léčivy. Tato farmakokinetická interakce byla zaznamenána u lidí během klinických experimentů, což naznačuje, že také farmakokinetika je určena jaterními uptake transportéry (Binet a kol., 2000). Telmisartan, antagonist receptorů pro angiotensin, je exkretován do žluče jako konjugát glukuronidu, u potkanů přinejmenším částečně díky Mrp2 (Abcc2) (Nishino a kol., 2000).

U lidí se v současné době předpokládá, že se OATP1B3 (OATP8, SLCO1B3/SLC21A8) zapojuje do jaterního vychytávání telmisartanu (Ishiguro a kol., 2005). Tudíž tento transportér může být determinantou farmakokinetiky telmisartanu.

Jak je zde popsáno, u některých léčiv, která jsou vychytávána do jater pomocí transportérů, může být uptake limitujícím faktorem eliminační rychlosti, dokonce i když je jejich konečnou eliminační cestou metabolismus.

Rifampicin je znám svou schopností indukovat enzymy metabolizující léčiva a transportéry a to prostřednictvím aktivace receptoru pregnanu X (PXR). Tato aktivace by měla být ovlivňována koncentrací rifampicinu v játrech. Tudíž by jaterní uptake transportéry měly být určujícími činiteli indukce enzymů a transportérů. Tinora a kolektiv ukázali, že rifampicin je substrát lidského OATP1B1,1B3 a potkaního Oatp1b2 (Tinora a kol., 2003). U lidí se zdá, že OATP1B1 má daleko větší afinitu a kapacitu k transportu rifampicinu než OATP1B3. Tudíž tito autoři naznačili, že OATP1B1 je hlavní determinantou rifampicinem zprostředkované PXR aktivace (Tirona a kol., 2003).

4.1.2.2. Substráty renálních transportérů

Transportéry se během renálního exkrece procesu zapojují jak do tubulární sekrece, tak do reabsorpce (Inui a kol., 2000a, Koepsell a Endou, 2004, Shitara a kol, 2005). V ledvinách se u léčiv pro uskutečnění transcelulárního transportu požaduje, aby procházela plazmatickou membránou, basolaterální membránou a kartáčovým lemem. Transportéry ledvin jsou zobrazeny v tabulce č.5. Transportéry zodpovědné za exkreci močí jsou ukázány v tabulce č.3. Ačkoliv podrobný transportní mechanismus je u většiny léčiv stále zkoumán, existuje několik případů, kdy už jsou transportéry na kartáčovém lemu charakterizovány.

4.1.2.3. Rovnováha mezi hepatickou a renální clearance určuje eliminační cestu.

Léčiva jsou převážně metabolizována nebo vylučována do moči nebo žluče. Proto je tedy celková tělní clearance (CL_{tot}) součtem CL_H a renální clearance (CL_R) jak je popsáno následující rovnicí :

$$CL_{tot} = CL_R + CL_H$$

Tato rovnice ukazuje, že rovnováha mezi CL_R a CL_H určuje eliminační cestu. Navíc CL_R a CL_H jsou regulovány afinitou a kapacitou léčiv k transportérům v játrech a ledvinách. Pravastatin je distribuován do jater transportéry zprostředkovaným jaterním vychytáváním. Na druhou stranu jeho vylučování močí v nezměněné podobě je relativně vysoké (41-47 %) po intravenózním podání (Hatanaka, 2000). To je přisuzováno faktu, že pravastatin je substrátem renálního transportéru nebo transportérů. Yamazaki a kolektiv studovali renální transportní mechanismus pravastatinu v potkaních a ukázali, že jeho vychytávání ledvinami je inhibováno p-aminohipurátem, což předpokládá existenci nasýtitelného transportního systému pro toto léčivo (Yamazaki a kol., 1996c).

Hasegawa a kolektiv analyzoval molekulární mechanismus renálního vychytávání pravastatinu u potkanů (Hasegawa a kol, 2002).

Ukázal, že potkaní organický anionický transportér 3 (Oat3, Slc22a8) přijímá pravastatin jako substrát, zatímco Oat1 (Slc22a6) nikoli. Hodnota K_m pro jeho vychytávání v potkaních ledvinových plátcích byla podobná s tou pro potkaní Oat3 exprimovaný v LLC-PK1 buňkách.

Navíc, inhibiční studie vychytávání pravastatinu p-aminohipuratem (poměrně selektivní inhibitor potkaního Oat1), benzylopenicilinem (poměrně selektivní inhibitor potkaního Oat3) a dibromosulfophthaleinem (nespecifický inhibitor potkaního Oat1 a Oat3) odhalili, že jejich inhibiční konstanty jsou podobné v potkaních ledvinách a Oat3 exprimujících buňkách. Tyto výsledky naznačili, že jeho renální vychytávání je zprostředkováno Oat3 (Hasegawa a kol. 2002). Takeda a kolektiv prokázali, že je to substrát lidského OAT3 (SLC22A8) (Takeda a kol, 2004). Jelikož se OAT3 projevuje na basolaterální membráně ledvinových proximálních tubulů, může u lidí pomoci při renálním vychytávání pravastatinu.

Farmakokinetika temokaprilatu, aktivního metabolitu temokaprilu, angiotensin konvertujícího enzymového (ACE) inhibitoru, je poměrně neovlivněna renálním selháním (Obuchu a kol., 1993). Předpokládá se, že je to způsobeno tím, že temokaprilát prochází jak renální, tak jaterní eliminací. Jedná se o zvláštní vlastnost u těchto klasických ACE inhibitorů a pomáhá při přítomnosti MRP2/Mrp2 v membráně žlučových kanálků hepatocytů (Ishuzita a kol., 1997).

Ačkoli jiné klasické ACE inhibitory jsou také vychytávány do hepatocytů pomocí transportérů, nejsou v takové míře vylučovány do žluče a jsou exkretovány hlavně do moči. Temokaprilát je substrátem MRP2/Mrp2 a je vylučován do žluče.

Celková clearance temokaprilátu je součtem jaterní a ledvinové clearance, zatímco ta u ostatních ACE inhibitorů je hlavně způsobená jejich renální clearance. V důsledku této duální eliminační cesty, neovlivňují změny v ledvinové funkci příliš plazmatickou koncentraci temokaprilátu. Jiné ACE inhibitory jsou značně ovlivňovány renálním selháním, protože nemají jinou eliminační cestu než je exkrece močí.

Tabulka č.5 Urinární exkreční poměr substrátů transportérů léčiv v ledvinách

(část 1.)

	f_e	Zúčastněné transportéry	Reference
Acyklovir	0.75	Lidský OAT1 ^a Lidský OCT1 ^a Potkaní Oat1 ^a Potkaní Oat3 ^b	Takeda a kol. (2002a) Takeda a kol. (2002a) Wada a kol. (2000) Ohtsuki a kol. (2002)
Adefovir	0.70-0.80	Lidský OAT1 ^a Potkaní Oat3 ^a	Cihlar a kol. (1999) Cihlar a kol. (1999)
Cidofovir	0.70	Lidský OAT1 ^a Potkaní Oat1 ^a	Cihlar a kol. (1999) Cihlar a kol. (1999)

(část 2.)

Amoxicilin	0.86	Lidský PEPT1 ^b Potkaní Oat1 ^b Potkaní Pept1 ^b Potkaní Pept2 ^b	Wenzel a kol. (1996) Jariyawat a kol. (1999) Wenzel a spol.(1996), Jariyawat a spol.(1999), Terada a spol.(1997)
Enalapril	0.88	Lidský PEPT1 ^b Potkaní Oatp1a1 ^a Potkaní Pept1 ^b	Han a kol.(1998,1999) Pang a kol.(1998) Temple a Boyd
Temokaprilat	0.090-0.32	Potkaní Mrp2 ^a Potkaní Oatp1a1 ^a	Ishizuka a kol.(1997) Ishizuka a kol.(1997)
Cefadroxil	0.84	Lidský OAT1 ^b Lidský OAT3 ^b Potkaní Oat1 ^b Potkaní Oat3 ^b Lidský PEPT1 ^b Lidský PEPT2 ^b Potkaní Pept1 ^a Potkaní Pept2 ^a	Takeda a kol. (2002b) Takeda a kol. (2002b) Jung a kol. (2002) Jung a kol. (2002) Wenzel a kol.(1996), Ganapathy a kol.(1995) Terada a kol.(1997), Ganapathy a kol.(1995) Terada a kol.(1997)
Cefamandol	0.71	Lidský OAT1 ^b Lidský OAT3 ^b Lidský OAT4 ^b Potkaní Oat1 ^b Potkaní Oat3 ^b	Takeda a kol.(2002b) Takeda a kol.(2002b) Takeda a kol.(2002b) Juriyawat a kol.(1999), Jung a kol.(2002) Jung a kol.(2002)

Cefazolin	0.80	Lidský OAT1 ^b	Takeda a kol.(2002b)
		Lidský OAT3 ^b	Takeda a kol.(2002b)
		Lidský OAT4 ^b	Takeda a kol.(2002b)
		Potkaní Oat1 ^b	Juriyawat a kol.(1999),
		Potkaní Oat3 ^b	Jung a kol.(2002)
Cimetidin	0.62	Lidský OAT1 ^a	Burckhardt a kol.(2003)
		Lidský OAT3 ^a	Cha a kol. (2001)
		Potkaní Oat3 ^a	Kusuhara a kol.(1999)
		Potkaní Oat1 ^a	Grundemann a kol. (1999)
Pravastatin	0.47	Lidský OAT3 ^a	Takeda a kol.(2004)
		Potkaní Oat3 ^a	Hasegawa a kol.(2002)

Poznámky:

f_e frakce, která je exkretována do moči v nezměněné formě

Převzato z článku: Transporters as a determinant of drug clearance and tissue distribution

(Shitara a kol., 2005)

4.1.3. Mechanismus transportéry zprostředkované interakce mezi léčiv

V minulosti byl analyzován mechanismus vzájemné interakce léčiv a to mezi cerivastatinem a CsA. Ukázalo se, že CsA inhiboval transportéry (i OATP1B1) zprostředkovaný uptake s jen minimálním efektem na mikrosomální metabolismus. To naznačuje, že tato interakce léčivo-léčivo je způsobena transportéry zprostředkovaným procesem vychytávání.

Farmakokinetika cerivastatinu je také ovlivňována spolupodáním gemfibrozilu (Backman a kol.,2002). Je to způsobeno inhibicí mikrosomálního metabolismu gemfibrozilu glukuronidu (Shitara a kol, 2004b). CsA, inhibitor transportérů, mění AUC s jen minimálním efektem na eliminační poločas ($t_{1/2}$) zatímco gemfibrozil, metabolický inhibitor, zvyšuje jak AUC tak i $t_{1/2}$ (Muck a kol., 1999, Backman a kol., 2002, Shitara a kol., 2005). Vysvětlení je následující. Eliminační poločas je popsán rovnicí :

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2 V_d}{CL_{tot}}$$

Cerivastatin je vysoce distribuován do jater a to díky účinnému, transportéry podmíněnému jaternímu vychytávání a vysokou vazbou na proteiny v játrech. Distribuční objem závisí hlavně na jaterní distribuci. U tohoto léčiva vede inhibice jaterního vychytávání, které je zprostředkováno transportéry, k redukcí distribučního objemu. Transportéry podmíněný jaterní uptake je také determinantou jeho jaterní clearance.

CsA současně redukuje V_d a CL_{tot} na podobnou úroveň, z toho vyplývá nezměněný $t_{1/2}$.

Na druhou stranu, gemfibrozil inhibuje metabolismus s menším účinkem na hepatický, transportéry zprostředkovaný uptake cerivastatinu. Tudiž dochází k redukci CL_{tot} , V_d tolik změněna není, to vede k prolongaci $t_{1/2}$ (Binet a kol., 2000, Treiber a kol., 2004)

Transportéry zprostředkovaná interakce léčiv se může vyskytovat v biliárním exkrečním procesu stejně tak, jako v procesu vychytávání. Ueda a kolektiv popsali metodu, jak kvantitativně předpovědět farmakokinetickou změnu, která je způsobena interakcí léčivo-léčivo, a to s ohledem na inhibici biliární exkrece a také na uptake (Ueda a kol., 2001). Zkoumali účinek probenecidu na uptake methotrexátu v izolovaných potkaních hepatocytech a v membráně žlučových kanálků proto, aby určili inhibiční konstantu (K_i) probenecidu za účelem kvantitativní předpovědi rozsahu interakce léčivo-léčivo in vivo.

Také zkoumali inhibiční efekt probenecidu na in vivo biliární exkreci methotrexátu, který je u potkanů exkretován do žluče proto, aby byl potvrzen jejich předpoklad. Zjistili, že uptake methotrexátu izolovanými potkaními hepatocyty a membránou žlučových vesikulů je inhibován probenecidem s hodnotou K_i 180 a 52 μM . Probenecid také u potkanů redukuje in vivo biliární exkreční clearance.

Matsushita a kolektiv zkoumali u potkanů účinek benzylpenicilinu na farmakokinetiku cefodizinu (Matsushita a kol., 1992). Cefodizin prochází biliární exkrecí v játrech a glomerulární filtrací v ledvinách. Proto tedy může být CL_{tot} cefodizimu popsána následující rovnicí :

$$CL_{tot} = CL_H + CL_R = CL_H + f_B GFR$$

f_B a GFR jsou volná krevní proteinová frakce a glomerulární filtrační hodnota. Koadministrace benzylpenicilinu patrně nemá efekt na farmakokinetiku cefodizimu. Nicméně benzylpenicilin redukoval hepatobiliární transport cefodizimu, což má za následek redukci hepatobiliární clearance.

Navíc benzylopenicilin snižuje schopnost plazmy vázat proteiny, což vede k zvýšení renální clearance. Redukovaná hepatobiliární exkrece a zvýšená močová exkrece mají za následek nezměněnou plazmatickou koncentraci cefodizimu. Je možné, že interakce mezi léčivy nemusí být odhalena jen díky měření plazmatického koncentračního profilu.

Ačkoliv je renální exkrece famotidinu u člověka ovlivňována spolupodáním probenecidu, u potkanů není změněna, což naznačuje tomu, že existuje mezidruhová odlišnost reálného clearance mechanismu famotidinu (Lin a kol, 1988, Inotsume a kol. 1990). Tahara a kolektiv zkoumali účinek probenecidu na uptake famotidinu renálními transportéry za účelem objasnění mechanismu mezidruhové odlišnosti (Tahara a kol. 2005a). Antagonisté H_2 receptorů jsou zaznamenány jako substráty OCT a OAT transportérů. Tahara a kolektiv zkoumali u lidí vychytávání antagonistů H_2 receptorů a skupinu potkaních OAT a OCT transportérů a inhibiční účinky vyvolané ostatními léčivy (Tahara a kol, 2005a).

Analyzovali mezidruhové rozdíly a zjistili, že transportní aktivita famotidinu vyvolaná potkaním Oat3 nebyla tak vysoká jako ta způsobená lidským OAT3. Probenicid vyvolává inhibici transportéru OAT3, který u lidí zprostředkovává přenos famotidinu, což se projeví interakcí mezi léčivy. U potkanů tato inhibice nepůsobí viditelné změny, patrně kvůli menšímu přínosu k renální clearance, který byl u potkanů způsoben Oct3.

Oct 1 stejně jako Oct2 (Slc22a2) přijímá famotidin jako substrát a u potkanů pravděpodobně přispívá k renální clearance famotidinu, zatímco u lidí se OCT1 (SLC22A1) v ledvinách neprojevuje. Probenicid neinteraguje s OCT transportéry. Vnitrodruhová rozdílnost, která je postavena na faktu, že probenecid mění farmakokinetiku famotidinu u lidí, ale ne u potkanů, je způsobena odlišností v aktivitách zprostředkovaných OAT3/Oat3 transportéry a existencí Oct1 v potkaních ledvinách.

Tahara a kolektiv zkoumali vnitrodruhovou rozdílnost v transportních aktivitách OAT1/Oat1 a OAT3/Oat3 u lidí, potkanů a opic, s použitím různých substrátů (Tahara a kol, 2005b). Dobrá korelace byla pozorována v případě srovnání lidí a potkanů a lidí v porovnání s opicemi pokud se týká OAT1/Oat1 zprostředkovaného transportu. V případě OAT3/Oat3 zprostředkovaného transportu byla dobrá korelace pozorována při srovnání lidí a opic, zatímco poměrně špatná korelace byla nalezena v případě srovnání lidí a potkanů. Tato skutečnost naznačuje, že extrapolace od potkanů k člověku není nevyhnutelně vhodná pro OAT3 substráty.

V nedávné době Tahara a kolektiv zkoumali u opic efekt probenecidu na farmakokinetiku famotidinu in vivo (Tahara a kol, v textu). Probenecid působí 65 % redukcí renální clearance a 90 % redukcí tubulární sekrece, která je velmi podobná stejné interakci pozorované u lidí. Navíc ukázali absenci Oct1 v opičích ledvinách. Tento výsledek rovněž předpokládá, že opice je vhodnějším modelem pro předpovědi OAT3 zprostředkované interakce mezi léčivy, která u lidí zahrnuje renální exkreci.

4.2. Rodiny transportérů

4.2.1 Polypeptidy transportující organické aniony (OATPs)

Oatps transportéry byly objeveny před méně než 15 lety. Zprostředkovávají Na^+ - nezávislý uptake bromosulfoftaleinu a taurocholátu. Jejich rodina čítá 11 lidských, 13 potkaních a 15 myších Oatps. Oatps1a1, 1a4 a 1a6 se nacházejí jen u hlodavců, ne u lidí. Oatp1a2 nalezneme jen u lidí. Název Oatps je nesprávným označením, protože tyto transportéry přenášejí nejen organické aniony, ale rovněž organické kationy a neutrální sloučeniny. Oatps jsou lokalizovány na sinusoidální membráně hepatocytů a transportují sloučeniny z krve do hepatocytu. Takto je přenášeno velké množství rozmanitých endogenních i exogenních látek, např. : konjugované hormony, leukotrien C4, žlučové kyseliny, prostaglandiny, digoxin, ouabain fexofenadine nebo pravastatin (Hagenbuch a kol., 2003)

Exprese OatpB1 a OATP1B3 u lidí probíhá v játrech a tyto pak zprostředkovávají transport rozdílných sloučenin do jater. Potkaní a myší Oatp1a1 (Oatp1) transportuje bromosulfotaurocholát, oestron-3-sulfát a ouabain, ale nepřenáší dioxin (Hagenbuch a Meier, 2004, Hagenbuch a kol, 2000). Exprese Oatp1 se odehrává hlavně v játrech potkanů a myší obou pohlaví, zatímco ledvinná exprese je vyšší než jaterní exprese u samců obou druhů.

U myší a potkanů se Oatp1a4 (Oatp2) exprese odehrává převážně v játrech, transportuje estron-3-sulfát, dehydroepiandrosteron sulfát, ouabain, BQ-123 (endotheliový receptorový antagonist) a digoxin. Oatp1a4 je nejvíce uznáván pro svou schopnost přenosu dioxinu a to s velkou afinitou (Noea kol., 1997, Guo 2001). Oatp1a5 (Oatp5) exprese probíhá v játrech potkanů a myší jen minimálně a tedy nepřispívá k jaternímu uptake xenobiotik.

Potkaní Oatp1b2 (Oatp4) transportuje taurocholát, dehydroepiandrosterone sulfát, estron-3-sulfát, T3, T4, leukotrien C4 a falloidin (Cattori a kol., 2001).

Nejsou známé studie, které by popisovaly myší Oatp1a6 a Oatp1b2 substráty.

U potkanů a myší Oatp1a6 probíhá exprese převážně v ledvinách. Potkaní Oatp1c1 (Oatp14) nalezneme v mozkové kapilárních endoteliálních buňkách a přenáší T3, T4, estradiol-17 β -glukuronid, cerivastatin a troglitazon sulfát (Tohyama a kol., 2004).

Expresi lidského OATP1C1 (Oatp-F, Oatp14) se odehrává v mozku a přenáší T3, bromosulfophthalein, estron-3-sulfát a estradiol-17 β -glukuronid (Pizzagalli a kol., 2002).

4.2.2. Multidrug resistance-associated proteiny (MRPs)

Od roku 1992, kdy byl objeven první člen rodiny MRP genů (Cole a kol., 1992) bylo naklonováno dalších osm lidských MRP. V současné době se rodina MRP skládá z devíti členů, MRP 1-9. Z hlediska struktury, MRP 1, 2, 3, 6 a 7, jsou složeny z amino-terminální transmembránové domény a P- glykoproteinového jádra, to se skládá ze dvou transmembránových domén a dvou nukleotid vázajících domén. MRP 4, 5, 8 a 9 postrádají amino-terminální transmembránové domény.

MRP jsou efluxní transportéry transportéry strukturálně odlišných amfifilních sloučenin a organických anionů.

MRP 1, 2 a 3 způsobují rezistenci vůči množství protirakovinových léčiv, jako jsou antracykliny, vinca alkaloidy a methotrexát a transportují organické anionty, např. glutathion a glukuronové konjugáty (Kruh a Belinsky, 2003). Na rozdíl od předešlých, MRP4 a 5 nepůsobují rezistenci vůči antracyklinům a vinca alkaloidům.

Opětovná exprese MRP 4 a 5 je spojená se zvýšeným celulárním efluxem purinových analogů a od nukleotidů odvozených antivirotik (Schuetz a kol.; 2003).

MRP 4 a 5 také transportují cyklické nukleotidy, jako je cAMP a cGMP (Schuetz a kol.; 1999). Kromě toho, MRP 4 přenáší rovněž methotrexát, estradiol-17 β -glukuronid, žlučové kyseliny a prostaglandiny přes plazmatickou membránu (Kruh a Belinsky, 2003).

MRP 7 transportují estradiol-17 β -glukuronid, ale ne cyklické nukleotidy, žlučové kyseliny, methotrexát. MRP 8 přenáší cyklické nukleotidy, žlučové kyseliny a konjugované steroidy (Chen a kol., 2003). MRP 9 jehož exprese probíhá hlavně v rakovinových buňkách prsu (Bera a kol.; 2002).

Několik MRP se podílí na jaterním efluxním transportu. MRP 2 je lokalizován na kanalikulární membráně hepatocytů, zde je zodpovědný za hepatobiliární exkreci amfipatických anionů a konjugátu endogenních a exogenních látek (Kruh a Belinsky, 2003).

Deficience MRP 2 proteinu u Dubin- Johnson syndromu má za následek hyperbilirubinemii (Paulusma a kol., 1996, Paulusma a kol., 1997). MRP 1, 3 a 4 jsou lokalizovány na bazolaterální membráně hepatocytů. Tyto tři MRP transportéry zprostředkovávají eflux organických anionů z hepatocytů do sinusoidální krve.

U lidí exprese MRP 2 a 3 probíhá na mnoha úrovních jater, zatímco MRP 1 a 4 se v játrech nevyskytují (Kool. a kol 1997, . Scheffer a kol.,2002). MRP 1-5 mRNA exprese byla detekována v tkáních mozku. MRP 1, 4 a 5 exprese byla zjištěna na lumenální straně kapilárních endoteliálních buněk mozku, MRP 4 a 5 exprese byla také objevena v astrocytech subkortikální bílé hmoty a MRP 5 je přítomný v pyramidálních neuronech. (Nies a kol.,2004).

Závažný problém dnes představuje získaná rezistence vůči tamoxifenu (TAM) u pacientů s karcinomem prsu. Přejít od na chemoterapii reagujících buněk rakoviny prsu rakovinným buňkám odolným je doprovázen zejména zvýšenou expresí proteinů Mrp.

Bylo zjištěno, že TAM rezistentní MCF – 7 (TAMR-MCF-7) buňky působily expresi vyšší hladiny MRP2 než kontrolní MCF – 7 buňky. Molekulární analýzy používající MRP2 genové promotery podporují spoluzodpovědnost pregnanového X receptoru (PXR) na zvýšenou expresi MRP2 v TAM-MCF-7 buňkách.. Navíc, bazální aktivity fosfatidylinositol 3-kinázy byly vyšší v TAMR-MCF-7 buňkách než v buňkách kontrolních. Inhibice fosfatidylinositol 3-kinázy redukuje jak aktivitu PXR, tak expresi v TAMR-MCF-7 buňkách (Choi a kol.,2007).

Muldrug resistance-asociovaný protein MRP3/Mrp3 (ABCC3) je upregulován cholestázou, adaptační odpovědí, která může ochránit játra od akumulace toxických sloučenin, jako jsou sole žluče a konjugáty bilirubinu. Fetoproteinový transkripční faktor/jaterní receptor homolog-1 je aktivátor MRP3/Mrp3 exprese. Dále byl identifikován mechanismus za účasti retioic X receptoru α (RXR α) a retionic acid receptoru α (RAR α), který potlačuje genovou expresi MRP3 genu skrze transkripční faktor Sp1. Luciferasová assay demonstrovala, že kotransfekce transkripčního faktoru Sp1 stimuluje MRP3 promotorovou aktivitu. Mutace GC boxu redukuje MRP3 promotorovou aktivitu.

Funkční role RXR α :RAR α jako represoru MRP3 exprese byla dále potvrzena pomocí small interfering RNA metody (siRNA) v HepG2 buňkách, kde byla sledována zvýšená MRP3 exprese.

Zatímco je RXR α :RAR α exprese snížena cholestatickým postižením jater, ztráta aktivity RXR α :RAR α komplexu může vést k upregulaci MRP3/Mrp3 exprese (Serrano a kol., 2007).

Mutace lidského ABCC6 jsou zodpovědné za onemocnění „pseudoxanthoma elasticum“, ačkoliv fyziologická funkce nebo substrát tohoto transportéru není znám.

Bylo zjištěno, že exprese tohoto genu v buňkách jaterního původu je významně upregulována retinoidy, které působí jako agonisté retinoid X receptoru (RXR), spíše než retinoidního A receptoru (RAR). Přímé zapojení tohoto nukleárního receptoru v transkripční regulaci ABCC6 (MRP6) genové exprese potvrdila transientní transfekce a chromatin imunoprecipitační metody.

MRP mohou zprostředkovávat multidrug rezistenci v tumorových buňkách. MRP4 byl identifikován jako androgenním receptorem (AR) regulovaný gen. Dihydrotestosteron indukuje MRP4 expresi v androgen-dependentních a independentních LNCaP buňkách, přičemž zde byla malá zjiřitelná exprese v PC-3 nebo v normálních epiteliálních buňkách prostaty. Porucha MRP4 exprese činí LNCaP buňky více senzitivní k metotrexátu, ale ne k etoposidu. Analýzy humánních tkání ukázaly MRP4 expresi pouze v metastatické rakovině prostaty. To znamená, že AR indukce MRP4 způsobuje rezistenci PC buněk k chemoterapeutickým léčivům nukleotidové struktury (Cai a kol., 2007)

ABCG1 a ABCA1 jsou membránové transportéry pro cholesterol a jsou zapojené do zprostředkování efluxu cholesterolu z buněk za přítomnosti HDL a jeho hlavního proteinového konstituantu – apolipoproteinu A-I. Nenasycené mastné kyseliny významně potlačují stimulační efekty oxysterolů a retinoidů na expresi ABCG1 mRNA a proteinu a potlačují aktivitu wild-typu lidského ABCG1 promoteru stejně jako ABCA1. Mutace nebo delece DR4 elementu uvnitř ABCG1 a ABCA1 promoterů, ke kterému se váží transkripční induktory LXR a RXR, ruší supresivní efekty nenasycených mastných kyselin.

Nenasycené mastné kyseliny potlačují expresi genu ABCG1 mechanismem, který zahrnuje vazbu LXR/RXR k promoteru. Suprese genů ABCA1 a ABCG1 může indikovat, že nenasycené mastné kyseliny nepotlačují nejen eflux cholesterolu, apolipoproteinu A-I, ale i vznikající HDL, má vliv i na HDL-dependentní eflux cholesterolu z vaskulárních buněk (Uehara a kol, 2007.)

4.2.3. Multidrug resistance proteiny (MDRs)

V rakovinových buňkách byla multidrug rezistence často spojována upregulací na energii závislým efluxním transportním proteinu, P- glykoproteidu (P-gp). Lidský P-gp i zvířecí ortology jsou kódované rodinou spřízněných genů, jedná se o multiple drug rezistentní geny

(MDR, mdr). Skupina I Mdr genů kóduje P-gp, které zprostředkovávají transport léčiv a tumor rezistenci vůči léčivům i hlodavců. (Ueda a kol., 1987). Lidský genom obsahuje pouze jeden gen kódující P-gp (označovaný MDR1 nebo ABCB1) (Chen a kol.,1986). P-gp má rozsáhlou skupinu rozdílných substrátů, kterými jsou typické neutrální a kationtové sloučeniny, např. : vinblastin, vinkristin a dioxin. (Gottesman a kol.; 2002).

Hlodavčí i lidský MDR2/Mdr2 transportér (oficiální označení genu ABCB4) je spojen s fosfolipidovým transportem a exkrecí fosfolipidů a cholesterolu do žluče a to více než s rezistencí léčivům. Změněná P-glykoproteinová exprese (P-gp/MDR1) a/nebo funkce může přispět k patogenezi gastrointestinálních zánětlivých poruch. Nízké hladiny střevní mRNA pro pregnanový X receptoru (PXR), který P-gp reguluje, jsou spojeny s nízkou hladinou MDR1 mRNA u pacientů s ulcerózní kolitidou.

Ze studie, ve které byly porovnávány intestinální MDR1 mRNA a proteinová exprese v zánětlivém a nezápětlivém intestinálním epitelu u pacientů s gastrointestinálními zánětlivými poruchami s kontrolami u zdravých lidí vyplynulo, že MDR1 mRNA hladiny v nezaníceném tlustém střevě u pacientů s ulcerózní kolitidou byly srovnatelné s těmi u zdravých lidí, zatímco byly mírně sníženy v ileu a mírně zvýšeny v tlustém střevě pacientů s Crohnovou chorobou. Na cytokinech závislý pokles exprese MDR1 nebyl pozorován u DLD-1 buňek.

Hladiny PXR proteinu byly srovnatelné v nezanícené i zanícené tkáni u Crohnovy choroby a ulcerózní kolitidy navzdory nízké PXR mRNA hladině v zaníceném intestinálním epitelu. Nízké hladiny MDR1 můžou tedy zhoršit intestinální zánět (Blokzijl a kol., 2007).

Cytochrom P450 monooxygenáza CYP3A4 (CYP3A4) a P-glykoprotein jsou zodpovědné za metabolismus endogenních steroidů a xenobiotik. Oba geny jsou regulované pregnanovým X receptorem (PXR, synonymum steroidní a xenobiotický receptor, SXR). CYP3A4, MDR1 a PXR exprese probíhá hlavně v játrech a tenkém střevě, ale také v buňkách rakoviny prsu.

Rozbory ukázaly, že 4-hydroxy tamoxifénem aktivované, PXR zprostředkovaná transkripce cestou CYP3A4 a MDR1, způsobem závislým na koncentraci ligandů a receptorů. Tamoxifen indukuje CYP3A4 a MDR1 genovou expresi cestou PXR, což může ovlivnit metabolickou cestu tamoxifenu v buňkách rakoviny prsu (Nagaoka a kol. 2006).

Silný induktor CYP1A1, β -naphthoflavon, který je ligandem Arylhydrokarbonového receptoru AhR významně down-reguluje MDR1 transkripční aktivitu při 10 mikromolární koncentraci (Nwankwo a kol., 2007).

4.3. Nukleární receptory

Jako nukleární receptory se označují transkripční faktory, které se po navázání specifického ligandu váží na regulační místo v promotorové oblasti cílového genu (na responzivní element) a zahajují transkripční aktivaci a přepis genetické informace do mRNA (Tirona a Kim, 2005). Existuje 49 členů této skupiny a každý sdílí důležité strukturní znaky. Nukleární receptory mají 3 hlavní proteinové domény, které mohou být rozděleny na základě jejich funkcí a umístění lineárních aminokyselin v polypeptidovém řetězci.

Součástí procesu je uvolnění korepresorových proteinů a navázání koaktivátorů na ligandem obsazený nukleární receptor a rozvolnění struktury histony/DNA. Pro detailnější informace týkající se transkripční regulace genové exprese faktorů ovlivňují farmakokinetiku odkazujeme na následující přehledové články (Urquhart a kol. 2007; Pávek a kol. 2005).

Tabulka č. 6 ukazuje nejdůležitější nukleární receptory a jejich cílové regulované geny, které ovlivňují farmakokinetiku léčiv.

4.3.1. Nukleární receptorová rodina 1 (NR1)

Členové NR1 rodiny transkripčních faktorů, jež ovlivňují geny určující dispozici léčiv včetně konstitutivního androstanového receptoru (CAR), pregnanového X receptoru (PXR), farnesoidního X receptoru (FXR), peroxisomového proliferátorem aktivovaného receptoru α a γ a receptoru pro vitamín D. Strukturně se skládají z N-terminální aktivační sekvence, DNA vážící domény, ligand vázající domény a C terminální aktivující sekvence.

Každý z těchto receptorů sdílí běžný signální mechanismus zahrnující ligand vážící se na receptor, heterodimerizaci s receptorem 9-cis retinoové kyseliny (RXR), vazbu RXR heterodimeru na response elementy (regulační elementy) cílových genů, uvolnění korepresorových proteinů, navázání koaktivátorů a zpuštění transkripce prostřednictvím polymerázy II.

4.3.1.1. Pregnanový X receptor (PXR)

PXR je transkripční faktor který zprostředkovává indukci CYP3A4, CYP3A1 a CYP3A11 u lidí, potkanů a myší.

Přestože je PXR lokalizován především v jádře, byla popsána také cytoplazmatická lokalizace a translokace receptoru PXR z cytoplazmy do jádra během aktivace. PXR tvoří dimer s retinoidním receptorem $X\alpha$ (RXR α) a společně rozpoznávají specifickou sekvenci promotorové DNA regulovaných genů označovaných jako responzivní sekvence PXR-RE (PXR response element). V těle je PXR zastoupen především v játrech, méně pak v tenkém a tlustém střevě, ledvinách a žaludku.

Mnoho klinicky významných interakcí léčiv, které zahrnují indukci cytochromu CYP3A4, jsou převážně důsledkem léčivem zprostředkované aktivace PXR receptoru (Kliwer a kol. 1998). V tomto případě byla identifikována dvě vazebná místa označována jako proximální a distální, která pro maximální indukční účinek spolupracují.

Zvýšená genová transkripce pomocí PXR je zahájena vazbou ligandu na receptor následovanou cytoplazmaticko-jadernou translokací PXR receptoru do jádra. K ligandům PXR náleží farmaka z řady terapeutických skupin, některé toxiny i endogenní steroidy.

Řada léčiv (např. phenobarbital) navíc aktivuje současně receptory PXR i CAR, což svědčí o určitém překryvu specifity ligandů/aktivátorů obou sirotčích receptorů. Typickým jevem je i tzv. autoindukce, tzn. léčivo indukuje prostřednictvím PXR nebo CAR biotransformační enzymy nebo transportéry, pro které je samo substrátem, a tím urychlí svou vlastní eliminaci (např. karbamazepin). PXR zprostředkovává indukci enzymů první i druhé fáze biotransformace a transportérů léčiv, které urychlují systémovou clearance při pokračující expozici léčiva. Navíc široká substrátová specifita PXR ke xenobiotikům různých chemických charakteristik značí významnou roli tohoto receptoru v xenosenzitivní adaptaci a v adaptaci k okolnímu prostředí. Trojrozměrná struktura PXR domény vázající ligand demonstruje rozsáhlou, flexibilní, hydrofobní ligandy vázající dutinu, která může vyhovovat této pestrosti chemických struktur.

Interindividuální variabilita metabolismu léčiv je všeobecně spojována s fenoménem genetického polymorfismu daného přítomností bodových mutací DNA (tzv. SNP, Single Nucleotide Polymorphism), které modifikují finální aktivitu enzymu. U CYP3A4 je však tato asociace nejasná a ukazuje se, že SNP v kodující nebo regulační oblasti genu CYP3A4 nejsou hlavní příčinou této variability. Polymorfismus PXR, který přímo reguluje expresi CYP3A4, se proto nabízí jako nejpravděpodobnější vysvětlení těchto fenoménů.

Dobře známá mezidruhová rozdílnost v indukci CYP3A genů prostřednictvím PXR nebo jeho hlodavčích orthologů různými induktory, jako je rifampin a pregnenolone 16- α - carbonitril (PCN), je připisována rozdílností v sekvenci aminokyselin v ligand vázajících doménách PXR mezi hlodavci a lidmi. Tudíž, pxr knockoutované myši s lidským PXR transgenem jsou humanizovány s ohledem na citlivost induktoru k lidskému PXR.

Jednotlivá substituce fenylalaninu za leucin v ligand vázající dutině potkaní prx způsobí schopnost potkaního pxr vázat rifampicin, který je jinak pouze ligandem lidské formy PXR.

(Tirona a kol. 2005). Dexametazon je rovněž PXR aktivátorem, indukuje Cyp3A4 mRNA expresi v lidských hepatocytech (Pascussi a kol., 2001), Cyp3A1 mRNA expresi potkaních játrech (Lee a kol., 1995) a Cyp3a11 mRNA expresi v myších játrech (Staudinger a kol., 2001).

4.3.1.2. Konstitutivní androstanový receptor (CAR)

Konstitutivní androstanový receptor (Constitutive Androstane Receptor, CAR, NR1I3) je blízký příbuzný receptoru PXR. Zatímco CAR je konstitutivně aktivní *in vitro* v nádorových buněčných liniích, v cytoplazmě primárních hepatocytů *in vivo* je přítomen v neaktivním stavu. Při léčbě modelovým induktorem fenobarbitalem translokuje CAR do jádra, kde aktivuje transkripci genů včetně členů isoform CYP2B cytochrome P-450. Atypicky pro tuto skupinu nukleárních receptorů, fenobarbital není přímým ligandem pro receptor CAR.

Spíše je CAREm zprostředkovaná genová regulace, vyvolaná léčbou fenobarbitalem, způsobena prostřednictvím nedefinované cesty zahrnující proteinovou fosforylaci koaktivátorů jako jsou GRIP1, PGC-1 a cytoplazmatický CAR retenční protein (CCRP). Geny CYP2B, CYP2C, CYP3A, SULT, UGT a MRP2 jsou známými cílovými geny nukleárního receptoru CAR, což signalizuje důležitou roli tohoto nukleárního receptoru v řízení odpovědi organismu na xenobiotika.

Kromě genu pro enzymy I. a II. fáze biotransformace a transportérů léčiv, řídí CAR i transkripci důležitých genů podílejících se na metabolismu endogenních látek, jako jsou bilirubin, žlučové kyseliny, hormony štítné žlázy, steroidní hormony a mastné kyseliny.

CAR a PXR společně chrání játra před toxickým působením kyseliny lithocholové (LCA) prostřednictvím indukce enzymů účastnících se metabolismu LCA. Navíc, hepatotoxicita acetaminofenu u myši může být závislá na CAR aktivaci (Tirona a kol. 2005)

Po aktivaci a translokaci, CAR heterodimerizuje s PXR α a váže se k fenobarbital response element modulu (PBREM) a takto aktivuje transkripci CYP2B6 (člověk), Cyp2B1 (potkan), Cyp2b10 (myš) genů (Wales K a kol., 2005). PBREM se skládá z sekvence o 51 párech bází, která obsahuje 2 CAR vážící sekvence, nukleární receptor 1 a nukleární receptor 2 vážící místa.

4.3.1.3. Farnesoidní X receptor (FXR)

FXR je senzor žlučových kyselin zodpovědný za regulaci syntézy žlučových kyselin a za jejich enterohepatickou recirkulaci. Působí v játrech, střevě, ledvinách. Antagonismus FXR vyvolaný guggulsteronem, který je součástí extraktu pryskyřice guggulového stromu, má za následek snížení hladiny cholesterolu, ale nečekaně i indukovaný transport žlučových kyselin BSEP, což naznačuje komplexní, receptorem zprostředkovanou regulaci lipidové homeostázy. Aktivace FXR syntetickým ligandem, GW4046, má chránit před experimentálními modely intra- a extra-hepatické cholestázy. (Tirona a kol. 2005, Dixit a kol. 2000).

4.3.1.4. Peroxisomální proliferátorem aktivovaný receptor α (PPAR α)

Peroxisomální proliferátorem aktivované receptory (PP) jsou strukturálně odlišné a jejich substráty zahrnují hypolipidická léčiva (jako jsou fibráty) a perfluorované mastné kyseliny.

Navíc k tomu, že způsobují nárůst počtu a velikosti peroxisomů, působí rovněž hepatomegalii a indukci speciálních enzymů zapojených jak do β -oxidace a mikrosomální ω -oxidace mastných kyselin. Issemann a Green identifikovali nukleární hormonální receptor, který byl označen jako PPAR (Issemann a Green , 1990).

Jsou známy 3 PPAR isoformy – PPAR α , δ/β a γ .

Mastné kyseliny jsou přírodní ligandy/aktivátory PPAR α , což naznačuje centrální roli tohoto receptoru v lipidové homeostáze. Ligandem aktivovaný PPAR α indukuje expresi enzymů metabolizujících mastné kyseliny, jako jsou například isoformy CYP4A. Navíc, fibrátová léčiva pomocí aktivace PPAR α snižují sérový cholesterol.

Modulace homeostázy žlučových kyselin je rovněž závislá na PPAR α , jelikož PPAR α reguluje geny důležité pro transport žlučových kyselin (bsep, ntcp, oatp1, and mdr2) i geny zásadní pro jejich metabolismus (UGT2B4). Navíc, PPAR α reguluje gen důležitého konjugačního enzymu UGT1A9. (Tinora a kol., 2005).

Exprese PPAR α je značná v játrech a ledvinách, ale nalezena byla i v srdci a svalch (Desvergne a kol., 1999).

Breast Cancer resistance protein (BCRP, ABCG2), člen skupiny ATP vážících transportérů byl identifikován jako protektivní pumpa vůči endogenním a exogenním toxickým původcům. Ve vysokých hladinách probíhá jeho exprese v kmenových buňkách a je různě regulován během buněčné diferenciaci. Exprese funkčního BCRP probíhá v lidských monocytárních dendritických buněčných liniích cestou aktivace nukleárního

receptoru PPAR gamma. Bylo identifikována a charakterizována 150 párů bází dlouhá promotorová regulační oblast tohoto transportéru, obsahující tři funkční PPAR citlivé elementy (PPARE).

Na tuto oblast se váže PPARgamma ve komplexu s RXR nukleárním receptorem. To znamená, že PPAR gamma přímo reguluje transkripci ABCG2. Zvýšená exprese ABCG2 mRNA je spojená se zvýšenou proteinovou produkcí, což má za následek zvýšení vypuzovací kapacity xenobiotik cestou BCRP v PPAR gamma aktivovaných buňkách. Zvýšená exprese BCRP transportéru může významně modifikovat rezistenci lidských myeloidních dendritických buněk vůči xenobiotikům a léčivům. (Szatmari a kol., 2006).

4.3.1.5. Receptor vitamínu D (VDR)

Zjištění, že $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D_3 indukuje geny CYP3A4 a MDR1 v intestinálních Caco-2 buňkách nasvědčuje, že VDR reguluje metabolismus a biodostupnost léčiv.

Na základě koexprese VDR a CYP3A4 v enterocytech se předpokládá, že potravou přijímaný vitamin D může modulovat intestinální first-pass metabolismus léčiv. Navíc žlučové kyseliny, jako je kyselina lithocholová, jsou agonisté VDR a předpokládá se, že regulují intestinální expresi enzymu CYP3A4. $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D_3 má protirakovinový efekt, bylo postulováno, že $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D_3 dependentní VDR zprostředkovaná indukce CYP 3A4 může reprezentovat protektivní mechanismus vůči toxickým xenobiotikům a karcinogenům. Agonismus VDR receptoru je spojen s ochranou vůči rakovině tlustého střeva.

4.3.2. Další transkripční faktory

4.3.2.1. Hepatocytový nukleární faktor 4 α (HNF4 α)

HNF4 α je členem rodiny nukleárních receptorů, jež rozhodují o udržení hepatického fenotypu (tj. reguluje transkripci pro hepatocyte specifických genů). Funguje jako homodimer a je konstitutivně aktivní díky vazbě integrálních mastných kyselin. Studie s modelem ablace myšního genu demonstrovaly důležitou roli HNF4 α v jaterním vývoji a diferenciaci. Myši s podmíněnou jaterní HNF4 α delecí mají změněný metabolismus lipidů a žlučových kyselin. HNF4 α je nejdůležitějším regulátorem v konstitutivní expresi enzymů cytochromu P-450 v hepatocytech.

Navíc, pro indukci genové transkripce prostřednictvím PXR a LXR je HNF4 α aktivita esenciální. Podobně, rozdílná exprese enzymů cytochrome P-450 u samců a samic myší je řízena *hnf4 α* . Tudíž se HNF4 α zdá být hlavním regulátorem exprese genů podílejících se na dispozici léčiv v organismu.

4.3.2.2. Jaterní receptorový homolog 1 (LRH-1)

LRH-1 je členem nukleární receptorové super rodiny, která působí konstitutivně jako funkční monomer při absenci exogenního ligandu. Je důležitý pro expresi enzymu (CYP7A1) limitujícího rychlost v biosyntéze žlučových kyselin. Indukce transportéru léčiv Mrp3 je ovlivněna expresí LRH-1.

4.3.2.3. Malý heterodimerní partner-1 (SHP-1)

SHP je neobvyklý nukleární receptor, který postrádá DNA vážící doménu. Tento nukleární receptor heterodimerizuje s transkripčními faktory AhR, CAR, PXR, LXR α , LRH-1, HNF4 α a glukokortikoidním receptorem (GR) a potlačuje expresi cílových genů těchto nukleárních receptorů.

4.3.2.4. Aryl hydrocarbonový receptor (AhR)

Ahr byl rozsáhleji studován pro svou roli ve zprostředkovávání indukce Cyp1a1 prostřednictvím 2,3,7-tetrachloro-dibenzo-p-dioxinu (TCDD) (Jones PB. a kol., 1986, Durrin LK. a kol., 1987). TCDD indukuje Cyp1a1 mRNA expresi v potkaních a myších játrech, stejně tak, jako v lidských buněčných liniích (Johnson DR. A kol.,2002). AhR byl tedy identifikován jako receptor pro dioxiny, který indukuje expresi aryl hydrokarbon hydroxalasy (cyp1a). Následně byl klonován gen pro AhR, který byl zařazen do *helix-loop-helix* rodiny transkripčních faktorů. Poměrně dobře je prostudována ligand dependentní transkripční aktivace AhR. Ten je lokalizován v cytoplazmě a přemísťuje se do jádra, následuje navázání ligandu a heterodimerizace s Ahr nukleárním translokátorem (ARNT) a vazba komplexu na xenobiotické response elementy (XRE) cílových orgánů (Sun a kol.,2004). Funkční XRE, skládající se z pentanukleotidové sekvence 5'-GCGTG-3', nalezneme v regulačních oblastech genů CYP1A, CYP1B a UGT1A.

Také jiné složky jako polychlorované bifenyly, indol-3-karbinol, 3-methylcholanthren indukují Cyp1a1 u potkaních, myších a lidských hepatocytů (Cheng a kol.,2005).

4.3.2.5. Nukleární faktor-E2-p45-související s faktorem 2 (Nrf2)

Nrf2 patří do rodiny *leucin zipper proteinů* NF-2 rodiny transkripčních faktorů, které se váží na antioxidantní response elementy (ARE, 5'-TGACnnnGC-3') genů zapojených do buněčné ochrany proti oxidačnímu stresu. Pomocí Nrf2 jsou regulovány enzymy metabolizující léčiva jako jsou CYP, UGT a efluxní transportér MRP. Studie prokázaly, že chemoprotektivní rakovinové působky jako je oltipraz nebo ethoxyquin, indukují expresi fáze-I a – II enzymů metabolizujících léčivo v játrech a střevu cestou aktivace Nrf2.

Po aktivaci, Nrf2 disociuje z Keap1 a translokuje se z cytosolu do jádra, kde interaguje (dimerizuje) s malým Maf a Ap-1 členy, váže se na antioxidantní response/elektrofilní response elementy shodné DNA vážící sekvence na 5'konci a aktivuje genovou transkripci. Nrf2 kontroluje v myších játrech bazální i indukibilní expresi mnoha genů, jako je NAD(P)H:quinone oxidoreductasa 1 (Nqo1, také známá jako DT-diaphorasa), heme oxygenasa-1, epoxid hydrolasa a glutathion-S-transferasa A1, P1/2 a A3. Oltipraz indukuje Nqo1 mRNA expresi V lidských derivovaných buňkách, stejně tak i v játrech myši a potkanů.

4.3.2.6. Jaterní nukleární faktor 1 α (HNF1 α)

HNF1 α je blízký produktům homeobox genů a působí jako funkční homodimer při regulaci genů esenciálních pro diferenciaci hepatocytů. Expresí lékových transportérů z rodiny OATP a biotransformačních enzymů cytochromu P-450 a konjugačních enzymů skupiny UGT je vysoce závislá na HNF1 α aktivitě. HNF1 α je rovněž důležitý pro správnou jaterní funkci (Tinora a kol.2005, Dixit a kol.,2005, Hanschin a kol., 2003).

Tabulka č.6 Shrnutí nukleárních receptorů a transkripčních faktorů zapojených do
dispozice léčiva a genové regulace. (část 1.)

Nukleární receptor	Gen	Exprese	Regulované geny	Regulační element
Konstitutivní androstan receptor (CAR)	NR1I3 1q23.1	Játra	Mrp3 [↑] ¹⁵² Mrp4 [↑] ¹⁶²	
Farnesoidní receptor (FXR)	NR1H4 12q23.3	Játra Tenké střevo	BSEP [↑] ⁵⁴⁻⁵⁶ MDR [↑] ⁵⁷	
Hepatocytový nukleární faktor 1α (HNF1α)	HNF1 12q24.2	Ledviny	Ntcp [↑] ^{14,167} Asbt [↑] ¹⁴ Oatp1 [↑] ¹⁴ Oatp2 [↑] ¹⁴	
Hepatocytový nukleární faktor 4α (HNF4α)	HNF4A 20q12-q13.1	Ledviny	Ntcp [↑] ¹⁶⁷ Oatp1 [↑] ⁷⁹ MDR [↑] ¹	
Nukleární faktor-E2 p45-blízké faktoru (Nrf2)	Nrf2 22q31		MRP1 [↑] ⁷	
Peroxisomální proliferátorem aktivovaný receptor α (PPARα)	NR1C1 22q12-q13.1	Ledviny	Bsep [↑] ⁶⁷ Oatp1 [↑] ⁶⁷ Ntcp [↑] ⁶⁷	
Pregnanový receptor (PXR)	NR1I2 3q13-q21	Lymfocyty	MDR1 [↑] ¹⁹¹ Oatp2 [↑] ¹⁹⁴ Mrp3 ^{192,193}	

Převzato z článku : Nuclear receptors and drug disposition gene regulation

(Tirona a Kim, 2005)

Tabulka č.7 Aktivátory a deaktivátory nukleárních receptorů

Nukleární receptor	Aktivátor	Deaktivátor/Inhibitory
AhR	polycyklické aromat.uhlovodíky,metabolity tryptophanu,beta- naftoflavonoidy	3,4-dimethoxyflavon
CAR	phenobarbital, CITCO, clotrimazol, phenytoin,	androstany
FXR	žlučové kyseliny, AGN29, GW4064, AGN31	guggulsteron, lithocholat
GR	glukokortikoidy	mifepriston
PPAR α	fibráty, WY-14,643	žlučové kyseliny
PXR	žlučové kyseliny a jejich prekurzory, rifampin, rifabutin, paclitaxel, nifedipin, clotrimazol, ritonavir,bosentan, phenytoin, lovastatin, simvastatin, vitamin E, carbamazepin, glukokortikoidy, spironolacton, topotecan, etoposid, omeprazol, guggulsteron,	žlučové kyseliny, ET-743
VDR	1 α ,25-dimethoxyvitamin D, lithocholát	

Převzato z článku : Nuclear receptors and drug disposition gene regulation (Tirona a Kim, 2005).

5. Diskuze:

Nukleární receptory jsou klíčové pro regulaci exprese genů, které kontrolují distribuci léčiv. Zatím toho víme jen poměrně málo o mechanismech, kterými sloučeniny regulují expresi transportérů, ale i o tom, zda regulace transportérů je zprostředkována pomocí nukleárních receptorů a jestli změna exprese transportérů způsobí změny v distribuci léčiv.

Studie, které využívaly na transportéry deficientní potkany nebo myši demonstrovaly, že ztráta jednotlivého transportéru může zásadně ovlivnit distribuci léčiva nebo jeho toxicitu, což indikuje důležitost exprese přenašeče nejen při distribuci léčiva a toxicitě, ale rovněž při interakci léčivo-léčivo. Společně s tím, jak jsou vytvářeny další myšší kmeny deficientních na jednotlivé transportéry je jisté, že v budoucnu bude dokumentováno více případů ukazujících, jak důležitou roli přenašeče hrají ve výše zmíněných procesech. Dnes je možné jednotlivé transportéry lidského, potkaního a myšího genomu i jejich regulační oblasti klonovat do plazmidové DNA, tudíž výzkum v oblasti farmakologie a toxikologie má zcela nové příležitosti k pochopení toho, jak je exprese transportérů regulována na molekulární úrovni.

Studie, jež definují, které sloučeniny jsou aktivátory lidských a hlodavčích nukleárních receptorů, dále jaké sloučeniny a receptory regulují lidské a hlodavčí transportéry, tkáňovou expresi různých přenašečů a substrátovou specifitu lidských a hlodavčích transportérů dovolí lepší poznání a předvídání dějů, které se odehrávají po aplikaci léčiva do těla.

V současné době probíhají intenzivní výzkumy a screening nových molekul k zjištění, zda tyto aktivují nukleární receptory. Screeningové studie by měly poskytovat léčiva s menším potenciálem k indukci genů, jež je spojena s distribucí léčiv a tudíž redukovat riziko interakcí.

Množství ligandem aktivovaných nukleárních receptorů a transkripčních faktorů může být důležitou determinantou interindividuální variability v odpovědi na léčivo a v toxicitě.

Více než kdy dříve je dnes využíváno znalostí aktivace nukleárních receptorů působením jednotlivých léčiv, alternativní medicínou nebo dietou a to k učení potenciálních změn v odpovědi na léčivo.

Díky tomu, že lépe porozumíme, jak závažně a v jakém rozsahu genová regulace nukleárního receptoru ovlivňuje distribuci léčiv, můžeme nalézt pro každého jednotlivého pacienta účinnější a bezpečnější terapii.

6. Závěr :

S pomocí databází PubMed, HighWire a ScienceDirect jsem vyhledala a shrnula v současnosti dostupné poznatky, které se týkají transkripční regulace lékových transportérů a to prostřednictvím nukleárních receptorů a transkripčních faktorů. Můžeme předpokládat, že tyto informace jsou pouze „špičkou ledovce“ současného poznání, které v budoucnu přinese komplexní pohled na problematiku transkripční regulace lékových transportérů.

7. Literatura

Abu-Zahra T.N., Wolkoff A.W., Kim R.B., Pang K.S., 2000. Uptake of enalapril and expression of organic anion transporting polypeptide 1 in zonal, isolateral rat hepatocytes. Drug Metab Dispos. 28. 801-806. *

Amidon G.L., Lee H.J., 1994. Absorption of peptide and peptidomimetic drugs. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 34. 321-341.

Ananthanarayanan M., Balasubramanian N., Makishima M., Mangelsdorf DJ., Suchy FJ., 2001. Human bile salt export pump promoter is transactivated by the farnesoid X receptor/bile acid receptor. J Biol Chem. 276. 28857-28865. **

Baer M., Gulick T., Choi H.S., Martinov M.G., Simka D., Moore D.D., 1994. A new member of the nuclear hormone receptor superfamily that interacts with a subset of retinoic acid response elements. Mol Cell Biol. 14. 1544-1551.

Barbier O., Torra I.P., Sirvent A., Claudel T., Blanquart C., Duran-Sandoval D., Kuipers F., Kosykh V., Fruchart J.C., Staels B., 2003. FXR induces UGT2B4 enzyme in hepatocytes, a potential mechanism of negative feedback control of FXR activity. Gastroenterology 124. 1926-1940.

Bera T.K., Iavarone C., Kumar V., Lee S., Lee B., Pastan I., 2002. Proc Natl Acad Sci USA 99(10). 6997-7002.

Blokzijl H., Vander Borgh S., Bok L.I., Libbrecht L., Geuken M., van den Neucel F.A., Dijkstra G., Roskams T.A., Moshage H., Jansen P.L., Faber K.N., 2007. Inflamm Bowel Dis. 13(6). 710-20.

Burbach K.M., Poland A., Bradfield C.A., 1992. Cloning of the Ah-receptor c DNA reveals a distinctive ligand-activated transcription factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 89. 8185-8189.

Cai C., Omwancha J., Hsieh C.L., Shemshedini L., 2007. Androgen induces expression of the multidrug resistance protein gene MRP4 in prostate cancer cells. *Prostate Cancer. Prostatic Dis.* 10(1). 39-45.

Cattori V., van Montfort J.E., Stieger B., Landmann L., Meijer D.K., Winterhalter K.H., Meier P.J., Hagenbuch B., (2001). *Pflugers Arch.* 443(2). 188-195.

C.D. Klaassen, A.L. Slitt, 2005. Regulation of Hepatic Transporters by Xenobiotic Receptors. *Current Drug Metabolism* 6. 309-328

Cui J., Juany L., Zhao A., LewJ.L., Sahoo S., Medike P.T., Royo I., Pelaez F., Wright S.D., 2003. Guggulsterone is a farnesoid X receptor antagonist in coactivator association assay but not to enhance transcription of bile salt export pump. *J Biol Chem.* 278. 10214-10220.

Dhe-Paganon S., Duda K., Iwamoto M., Chi YI., Schoelson SE., 2002. Crystal structure of the HNF4 alpha ligand binding domain in complex with endogenous fatty acid ligand. *J Biol Chem.* 277. 37973-37976.

Dresser M.J., Leabman M.K., Giacomini K.M., 2001. Transporters involved in the elimination of drugs in the kidney, organic anion transporters and organic cation transporters. *J Pharm Sci.* 90. 397-421.

Dixit S.G, Tirona R.G, Kim R.B., 2005. Beyond CAR and PXR. *Curr Drug Metab.* 6(4). 385-97.

Giacomini K.M., Sugiyama Y., 2005. Membrane transporters and drug response. In: Brunton, L.L., Lazo, J.S., Parker, K.L. (Eds.), Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th ed. McGraw-Hill Professional. New York. 41-70.

Forman B.M., Chen J., Evans R.M., 1997. Hypolipidemic drugs, polyunsaturated fatty acids and eicosanoids are ligands for peroxisome proliferator-activated receptors α and δ . *Proc Natl Acad Sci. USA* 94. 4312-4317.

Frain M., Swart G., Monaci P., Nicosia A., Frank R., Cortese R., 1989. The liver-specific transcription factor LF-B1 contains a highly diverged homeobox DNA binding domain. *Cell* 59. 145-157.

Galarneau L., Pare J.F., Allard D., Hamel D., Levesque L., Tugwood J.D., Green S., Belanger L., 1996. The α 1-fetoprotein locus is activated by a nuclear receptor of the Drosophila FTZ-F1 family. *Mol Cell Biol.* 16. 3853-3865.

Geick A., Eichelbaum M., Burk O., 2001. Nuclear receptor response elements mediate induction of intestinal MDR1 by rifampin. J Biol Chem. 276. 14581-14587.

Giacomini K.M., Sugiyama Y., 2005. Membrane transporters and drug response. In: Brunton L.L., Lazo J.S., Parker K.L., Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th ed. McGraw-Hill Professional. New York. 41-70.

Gottesman M.M., Fojo T. Bates S.E., 2002. Nat Rev Cancer 2(1). 48-58.

Gregory P.A., Leninsky R.H., Gardner-Stephen D.A., Mackenzie P.I., 2004. Coordinate regulation of the human UDP-glucuronosyltransferase 1A8, 1A9 and 1A10 genes by hepatocyte nuclear factor 1 alpha and the caudal-related homeodomain protein 2. Mol Pharmacol. 65. 953-963.

Guo G.L., Staudinger J.L., Obuta K., Klaassen C.D., 2002. Induction of rat organic anion transporting polypeptide 2 by pregnenolone-16alpha-carbonitrile is via interaction with pregnancy X receptor. Mol Pharmacol 61. 832-839.

Guo G.L., Klaassen C.D., 2001. J Pharmacol Exp Ther. 299(2). 551-557.

Guo Y., Kotova E., Chen Z.S., Lee K., Hopper-Borge E., Belinsky M.G., Kruh G.D., 2003 J Biol Chem. 278(32). 29509-29514.

Hagenbuch B., Meier P.J., 2003. Biochim Biophys Acta. 1609(1). 1-18.

Hagenbuch B., Meier P.J., 2004. Pflugers Arch. 447(5). 653-665.

Hagenbuch B., Adler I.D., Schmid T.E., 2000. *Biochem J.* 345(1). 115-120

Handschin C., Meyer U.A., 2003. Induction of drug metabolism: the role of nuclear receptors. *Pharmacol Rev.* 55(4).649-73.

Hayashi A., Itoh K., Yamamoto M., Sugiyama Y., 2003. Transcription factor Nrf2 is required for the constitutive and inducible expression of multidrug resistance-associated protein 1 in mouse embryo fibroblasts. *Biochem. Biophys Res Commun.* 310. 824-829.

Hayhurst G.P., Lee Y.H., Lambert G., Ward J.M., Gonzalez F.J., 2001. Hepatocyte nuclear factor 4alpha (nuclear receptor 2A1) is essential for maintenance of hepatic gene expression and lipid homeostasis. *Mol Cell Biol.* 21. 1393-1403.

Homma S., Komohara Y., Farada M., Saya H., Todo S., Itoh K., Noguchi M., 2007. Differential levels of human leukocyte antigen-class I, multidrug-resistance 1 and androgen receptor expressions in untreated prostate cancer cells: the robustness cancer. *Oncol Rep.* 18(2). 343-6.

Chen C.J. Chin J.E., Ueda K., Clark D.P., Pastan I., Gottesman M.M., Roninson I.B., 1986. *Cell* 47(3). 381-389.

Chen W., Cai S.Y., Xu S., Denon L.A., Sokora C.J., Boyer J.L., 2007. Nuclear receptor RXRalpha:RARalpha are repressors for human MRP3 expression. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 292(5). G1221-7.

Chen W.S., Manova K., Einstein D.C., Runcán S.A., Plump A.S., Presiozo V.R., Bachvarova R.F., Darnell J.E.Jr., 1994. Disruption of the HNF-4 gene, expressed in visceral endoderm, leads to cell death in embryonic ectoderm and impaired gastrulation of mouse embryo. *Genes Dev.* 8. 2466-2477.

Chen Z.S., Guo Y., Belinsky M.G., Kotova E., Kruh G.D., 2005. *Mol Pharmacol.* 67(2). 545-557.

Cheung C., Akiyama T.E., Kudo G., Gonzalez F.J., 2003. Hepatic expression of cytochrome P450s in hepatocyte nuclear factor 1-alpha (HNF1alpha)-deficient mice. *Biochem Pharmacol.* 66. 2011-2020.

Choi H.K., Yang J.W., Han C.Y., Kang K.W., 2007. Induction of multidrug resistance associated protein 2 in tamoxifen-resistant Breast cancer cells. *Endocr Relat Cancer* 14 (2). 293-303.

Issemann I., Prince R.A., Tugwood J.D., Green S., 1993. The peroxisome proliferator-activated receptor: retinoid X receptor heterodimer is activated by fatty acids and fibrate hypolipidemic drugs. *J Mol Endocrinol.* 11. 37-47.

Juany L., Zhao A., Jew J.L., Zhang T., Hrywna Y., Thompson J.R., de Pedro N., Royo I., Blevins R.A., Pelaez F., Wright S.D., Cui J., 2003. Farnesoid X receptor activates transcription of the phospholipid pump MDR3. *J Biol Chem.* 278. 1085-51090.

Jung D., Kulak-Ublick G.A., 2003. Hepatocyte nuclear factor 1 alpha: A key mediator of the effect of bile acids on gene expression. *Hematology* 37. 622-631.

Jung D., Hagenbuch B., Fried M., Meier P.J., Kulak-Ublick G.A., 2004. Role of liver-enriched transcription factor and nuclear receptors in regulating the human, mouse and rat NTCP gene. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 286. G752-G761.

Kawamoto T., Sueyoshi T., Zelko I., Moore R., Washburn K., Negishi M., 1999. Phenobarbital-responsive nuclear translocation of the receptor CAR in induction of the CYP2B gene. *Mol Cell Biol*. 19. 6318-6322.

Kawamoto T., Kakizaki S., Yoshinari K., Negishi M., 2000. Estrogen activation of the nuclear orphan receptor CAR (constitutive active receptor) in induction of the mouse Cyp2b10 gene. *Mol Endocrinol* 14. 1897-1905.

Kliwer S.A, Moore J.T., Wade L., Staudinger J.L., Watson M.A., Jones S.A., McKee D.D., Oliver B.B., Wilson T.M., Zetterstrom R.H., Perlmann T., Lehmann J.M., 1998. An orphan nuclear receptor activated by pregnanes defines a novel steroid signaling pathway. *Cell* 92. 73-82.

Kok T., Bloks V.W., Wolters H., Havinga R., Jansen P.L., Staels B., Kuipers F., 2003. Peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α)-mediated regulation of multidrug resistance 2 (Mdr2) expression and function in mice. *Biochem J*. 369. 539-547.

Kool M., de Haas M., Scheffer G.L., Scheper R.J., van Eijk M.J., Juijn J.A., Baas F., Borst P., 1997. Cancer Res. 57(16). 3537-3547.

Lehmann J.L., McKee D.D., Watson M.A., Wilson T.M., Moore J.T., Kliewer S.A., 1998. The human orphan nuclear receptor PXR is activated by compounds that regulate CYP3A4 gene expression and cause drug interactions. J Clin Incest 102. 1016-1023.

Liu Y., Binz J., Numerick M.J., Denis S., Luo G., Desai B., MacKenzie K.I., Mansfield T.A., Kliewer S.A., Goodwin B., Jones S.A., 2003. Hepatoprotection by the farnesoid X receptor agonist CW4064 in rat modele of intra- and extrahepatic cholestasis. J Clin Intest. 112. 1678-1687.

Makishima M., Okamoto A.Y., Repa J.J., Tu H., Learned R.M., Luk A., Hull M.V., Lustig K.D., Mangelsdorf D.J., Shan B., 1999. Identification of a nuclear receptor for bile acids. Science 284. 1362-1365.

Mangelsdorf D.J., Evans R.M., 1995. The RXR heterodimers and orphan receptors. Cell 83. 841-850.

Nagaoka R., Iwasaki T., Rokutanda N., Takeshita A., Koibuchi Y., Horiguchi J., Shimokawa N., Iino Y., Morishita, Koibuchi N., 2006. Tamoxifen activates CYP3A4 and MRP1 genes trough steroid and xenobiotic receptor in Brest cancor cells. Endocrine 30(3). 261-8.

Nies A.T., Jedlitschky G., Konig J., Herold-Mende C., Steiner H.H., Schmitt H.P., Keppler D., 2004. Neuroscience 129(2). 349-360.

Nwankwo J.O., 2007. Significant transcriptional down-regulation of the human MDR1 gene by beta-naphthoflavon: a propose hypothesi linking potent CYP gene induction to MDR1 inhibition. Med Hypotheses 68(3). 661-9.

Paulusma C.C., Bosma P.J., Zaman G.J., Bakker C.T., Otter M., Scheffer G.L., Scheper R.J., Borst P., Oude Elferink, R.P., 1996. Science 271(5252). 1126-1128.

Paulusma C.C., Kool M., Bosma P.J., Scheffer G.L., Borg F., Scheper R.J., Tytgat G.N., Borst P., Baas F., Oude Elferink R.P., 1997. Hematology 25(6). 1539-1542.

Pizzagalli F., Hagenbuch B., Stieger B., Klenk U., Folkers G., Meier P.J., 2002. Mol Endocrinol. 16(10). 2283-2296.

Plass J.R., Mol O., Heegsma J., Geuken M., Faber K.N., Jansen P.L., Miller M., 2002. Farnesoid X receptor and bile salts are involved in transcriptional regulation of the gene encoding the human bile salt export pump. Hematology 35. 589-596.

Poland A., Glover E., Kende A.S., 1976. Stereospecific, high affinity binding of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin by hepatic cytosol. Evidence that the binding species is receptor for induction of aryl hydrocarbon hydroxylase. J Biol Chem. 251. 4936-4946.

Pontoglio M., Barra J., Hadchouel M., Doyen A., Kress C., Bach J.P., Babinet C., Yaniv M., 1996. Hepatocyte nuclear factor 1 inactivation results in hepatic dysfunction, phenylketonuria, and renal Fanconi syndrome. *Cell* 84. 575-585.

Ratajewski M., Bartosz G, Pulaski L., 2006. Expression of the human ABCC6 gene is induced by retinoids through the retinoid receptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 350 (4). 1082-7.

Seol W., Choi H.S., Moore D.D., 1996. An orphan nuclear hormone receptor that lacks a DNA binding domain and heterodimerizes with other receptors. *Science* 272. 1336-1339.

Shachet V.J., Salphati L., Benet L.Z., 2001. Active secretion and enterocytic drug metabolism barriers to drug absorption. *Adv Drug Deliv Rev.* 46. 89-102.

Shih D.Q., Bussen M., Sehayen E., Ananthanarayanan M., Schneider B.L., Suchy F.L., Shefer S., Bollilini J.S., Gonzalez F.J., Breslow J.L., Stoffel M., 2001. Hepatocyte nuclear factor-1 α is an essential regulator of bile acid and plasma cholesterol metabolism. *Nat Genet.* 27. 375-382.

Shitara Y., Sato H., Sugiyama, Y, 2005. Evaluation of drug-drug interaction in the hepatobiliary and renal transport of drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 45. 689-723.

Shulman A.I., Larson C., Mangalsdorf D.J., Ranganathan R., 2004. Structural determinant of allosteric ligand activation in RXR heterodimers. *Cell* 116. 417-429.

Scheffer G.L., Kool M., de Haas M., de Vree J.M., Pijnenborg A.C., Bosman D.K., Elferink R.P., van d. V., Borst P., Scheper R.J., 2002. Lab Invest. (2).193-201.

Sladek F.M., Zhog W.M., Lai E., Darnell J.E.Jr., 1990. Liver-enriched transcription factor HNF-4 is a novel member of the steroid hormone receptor superfamily. Genes Dev. 4. 2353-2365.

Smit J.J., Schinkel A.H., Oude Elferink R.P., Groen A.K., Wagenaar E., van Deemter L., Mol C.A., Ottenhoff R., van der Lugt N.M., van Roon M.A., 1993. Cell 75(3). 451-462.

Staudinger J.L., Madan A., Carol K.M., Parkonson A., 2003. Regulation of drug transporter gene expression by nuclear receptor. Drug Metanol Dispos. 31. 523-527.

Tamai I., Tsuji A., 2000. Transporter-mediated permeation of drug across the blood-brain barrier. J Pharm Sci. 89. 1371-1388.

Teng S., Jekerle V., Piquette-Miller M., 2003. Induction of ABCC3 (MRP3) by pregnancy X receptor activators. Drug Meta Dispos. 31. 1296-1299.

Tirona R.G., Kim R.B., 2005. Nuclear receptors and drug disposition gene regulation. J Pharm Sci. 94(6).1169-86.

Thummel K.E., Brimer C., Aysuda K., Thottassery J., Lin Y., Ishizuka H., Kharasch E., Schuetz J., Schuetz E., 2001. Transcriptional control of intestinal cytochrome P 4503A by 1,25-dihydroxy vitamin D3. Mol Pharmacol. 1399-1406.

Tohyama K., Kusuhashi H., Sugiyama Y., 2004. Endocrinology 145(9). 4384-4391.

Tsuji A., Tamai I., 1996. Carrier-mediated intestinal transport of drugs. *Phar Res.* 13. 963-977.

Ueda K., Cardarelli C., Gottesman M.M., Pastan I., 1987. *Proc Natl Acad Sci. USA*, 84(9). 3004-3008.

Uehara Y., Miura S., von Eckardstein A., Abe S., Fujii A., Matsuo Y., Rust S., Lorkowski S., Assman G., Yamada T., Saku K., 2007. Unsaturated fatty acids suppress the expression of the ATP-binding cassette transporter G1 (ABCG1) and ABCA1 genes via an LXR/RXR responsive element. *Atherosclerosis* 191(1). 11-21.

Urquhart B. L., Tirona R. G., Kim R. B., 2007. Nuclear Receptors and the Regulation of Drug-Metabolizing Enzymes and Drug Transporters: Implications for Interindividual Variability in Response to Drugs. *J Clin Pharmacol.* 47. 566-578

Van Montfort J.E., Hagenbuch B., Groothuis G.M., Koepsell H., Meier D.K., 2003. Drug uptake system in liver and kidney. *Curr Drug Metab.* 4. 185-211.

Venugopal R., Jaiswal A.K., 1996. Nrf1 and Nrf2 positively and C-Fos and Fra 1 negatively regulate the human antioxidant response element-mediated expression of NAD(P)H: quinone oxidoreductase1 gene. *Proc Natl Acad Sci. USA* 93. 14960-14965.

Wang H., Chen J., Hollister K., Sowers LC., Forman B.M., 1999. Endogenous bile acids are ligands for the nuclear receptor FXR/BAR. Mol Cell 3. 543-553.

Wacher V.J., Salphati L., Benet L.Z., 2001. Active secretion and enterocytic drug metabolism barrier to drug absorption. Adv Drug Deliv Rev. 46. 89-102

Wielinga, P.R., van, d.H., I, Reid, G., Beijnen, J.H., Wijnholds, J. and Borst, P., 2003. J Biol Chem. 278(20). 17664-17671.

Wiwi C.A., Gupte M., Axman D.J., 2004. Sexually dimorphic P450 gene expression in liver-specific hepatocyte nuclear factor 4(alpha)-deficient mice. Mol Endocrinol. 18. 1975-1987.

Wisely G.B., Miller A.B., Davis R.G., Thornquest A.D.jr., Johnson R., Spitzer T., Sefler A., Shearer B., Moore J.T., Willson T.M., Williams S.P., 2002. Hepatocyte nuclear factor 4 is a transcription factor that constitutively binds fatty acids. Structure (Camb) 10.1225-1234.

Xiong H., Yoshinari K., Broer KJ., Negishi M., 2002. Role of constitutive androstane receptor in the in vivo induction of Mrp3 and CYP 2B1/2 by phenobarbital. Drug Metab Dispos. 30. 918-923.

Yamazaki M., Suzuki H., Sugiyama Y., 1996a. Recent advances in carrier-mediated hepatic uptake and biliary excretion of xenobiotics. Phar Res. 13. 497-513.

Zollner G., Wagner M., Fickert P., Gilbert D., Gumhold J., Zatloukat K., Denk H., Trauler M., 2007. Expression of bile acid synthesis and detoxification enzymes and alternative bile acid efflux pump MRP4 in patients with primary biliary cirrhosis. Liver Int.27 (7). 920-9.

Zhang Y., Benet L.Z., 2001. The gut as a barrier to drug absorption: combined role of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein. Clin Pharmacokinet. 40. 159-168.

* Přečtené jako review

** Přečtené jako fulltext

